

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Série Etat N° 6

1° De l'activité et de la toxicité locale et générale de diverses Substances antiseptiques urinaires

2° Proposition donnée par la Faculté

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU GRADE DE

Docteur en Pharmacie (DOCTORAT D'ÉTAT)

présentée et soutenue le

1942

PAR

Hélène MORIN

JURY { MM. J. RÉGNIER, *Président.*
M. JANOT, *Professeur.*
G. VALETTE, *Maître de Conférences.*

PARIS

JOUVE & C^{ie}, ÉDITEURS

15, RUE RACINE, 15

1942

FACULTÉ DE PHARMACIE DE PARIS

Nom du Candidat : **MORIN.**

Prénom : **Hélène.**

Date de la soutenance :

Numéro d'ordre : 6.

MORIN (Hélène). — De l'activité et de la toxicité locale et générale de diverses Substances antiseptiques urinaires. — Paris, Jouve et C^{ie}, 1942, in-8°, 232 p.

Th. Pharm. Paris, 1942. Série Etat N° 6.

MORIN (Hélène). — De l'activité et de la toxicité locale et générale de diverses Substances antiseptiques urinaires. — Paris, Jouve et C^{ie}, 1942, in-8°, 232 p.

Th. Pharm. Paris, 1942. Série Etat N° 6.

MORIN (Hélène). — De l'activité et de la toxicité locale et générale de diverses Substances antiseptiques urinaires. — Paris, Jouve et C^{ie}, 1942, in-8°, 232 p.

Th. Pharm. Paris, 1942. Série Etat N° 6.

MORIN (Hélène). — De l'activité et de la toxicité locale et générale de diverses Substances antiseptiques urinaires. — Paris, Jouve et C^{ie}, 1942, in-8°, 232 p.

Th. Pharm. Paris, 1942. Série Etat N° 6.

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Série Etat N° 6

1° De l'activité et de la toxicité locale et générale de diverses Substances antiseptiques urinaires

2° Proposition donnée par la Faculté

THÈSE

POUR L'OBTENTION DU GRADE DE

Docteur en Pharmacie

(DOCTORAT D'ÉTAT)

présentée et soutenue le

1942

PAR

Hélène MORIN

JURY { MM. J. RÉGNIER, *Président.*
M. JANOT, *Professeur.*
G. VALETTE, *Maître de Conférences.*

PARIS

JOUVE & C^{ie}, ÉDITEURS

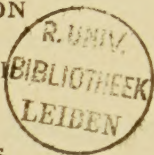
15, RUE RACINE, 15

1942

Personnel de la Faculté de Pharmacie de Paris

ADMINISTRATION

MM. DAMIENS, *Doyen*, O. ✱, **OL**.
H. HERISSEY, *Assesseur*, O. ✱, **OL**.
H. J. LIONNET, *Secrétaire*, **OL**.



PROFESSEURS

MM. DAMIENS, O. ✱, OL	Chimie minérale.
HERISSEY, O. ✱, OL	Chimie biologique.
SOMMELET, ✱, OL	Chimie organique.
FABRE, ✱, OL	Toxicologie.
LAUNOY, O. ✱, OL	Zoologie.
DELABY, ✱, OL	Pharmacie chimique.
PICON, ✱, OL	Physique.
MASCRE, ✱, OL	Histoire naturelle des médicaments simples d'origine végétale.
BACH, ✱, OL	Botanique.
FLEURY, OL	Chimie analytique.
RÉGNIER, OL	Microbiologie.
JANOT, OA	Pharmacie galénique.

Doyens honoraires : MM. RADAIS, O. ✱, **OL**. — GUÉRIN, O. ✱, **OL**.

Professeurs honoraires :

MM. DELÉPINE, O. ✱, **OL** et LEBEAU, O. ✱, **OL**, Membres de l'Institut.
PERROT, C. ✱, **OL**, COUTIÈRE, O. ✱, **OL**, BOUGAULT, O. ✱, **OL**,
LUTZ, ✱, **OL**. GORIS, O. ✱, **OL**.

MAITRES DE CONFÉRENCES

BEDEL, ✱, OL	Minéralogie, Législation et Déontologie pharmaceutiques.
CHARONNAT, OL	Hydrologie et Hygiène.
VALETTE, OA	Cryptogamie et Technique microbiologique. Pharmacodynamie.
FONTAINE,	Histoire naturelle.
GUILLOT,	Sciences physiques et chimiques.
N....	Sciences naturelles.

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DOMANGE, OA , trav. pratiques de 1 ^{re} année.	Chimie générale et pharmaceutique.
GAUTIER, OA , trav. prat. de 2 ^e et 3 ^e année.	Chimie analytique.
PARIS.	Micrographie.
CORRIEZ, OA	Physique.
DAVID, OL	Microbiologie.
N...	Chimie biologique, Bromatologie et Pharmacie chimique.

Bibliothécaire en Chef : M. GARNIER, **OA**

Bibliothécaire : M^{lle} LAVAUD, **OA**.

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

LE DOCTEUR EUGÈNE MORIN

Médecin-Major

Mort pour la France (Vadelaincourt, 6 septembre 1917)

A MA MÈRE

A TOUS CEUX QUI ME SONT CHERS

A MONSIEUR LE PROFESSEUR J. RÉGNIER

Professeur de Microbiologie à la Faculté de Pharmacie
Pharmacien des Hôpitaux

*A qui je dois la réalisation de ce travail.
En témoignage de ma très grande reconnaissance et de mon respectueux attachement.*

A MONSIEUR LE PROFESSEUR M. JANOT

Professeur de Pharmacie galénique
à la Faculté de Pharmacie

A MONSIEUR G. VALETTE

Maître de Conférences à la Faculté de Pharmacie
Pharmacien des Hôpitaux

*Qui ont bien voulu faire partie du jury de
cette thèse.*

En hommage de ma respectueuse gratitude.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

De l'activité et de la toxicité locale et générale de diverses Substances antiseptiques urinaires

INTRODUCTION

La détermination de la valeur des antiseptiques a suscité depuis longtemps des recherches.

Ces recherches ont tout d'abord porté sur la mise au point de méthodes d'essai *in vitro* des activités antimicrobiennes. J. RÉGNIER et S. LAMBIN ont ainsi établi une méthode d'essai de la valeur des antiseptiques qui a fait ses preuves dans l'étude de nombreuses substances et qui demeure parfaitement valable pour tous les essais *in vitro*. Cependant, les indications obtenues pour des milieux d'essai extérieurs à l'organisme ne permettent pas de juger de l'activité anti-infectieuse *in vivo*. Or, ce dernier point est devenu particulièrement important depuis que la chimiothérapie s'est enrichie de toute une classe de composés nouveaux, fort différents des antiseptiques classiques par ce fait qu'ils montrent *in vitro* une action germicide faible ou inconsistante.

Dans le laboratoire de Monsieur le Professeur J. RÉGNIER, on a pensé depuis longtemps à essayer les antiseptiques comparative-ment *in vitro* et *in vivo*. Dans cet esprit, nous avons ainsi abordé l'étude des antiseptiques urinaires par celle d'une série de dérivés de la résorcine, dont le type est l'hexylrésorcine, antiseptique introduit dans les pays anglo-saxons pour la désinfection urinaire. Cette étude nous a été possible grâce à l'obligeance de Monsieur DELANGE qui a préparé pour nous quelques nouveaux corps à côté de dérivés déjà connus. En particulier, l'espoir de faire disparaître l'action légèrement irritante de l'hexylrésorcine et des composés voisins, nous a conduit à la préparation et à l'essai

de dérivés résorciniques acétylés dont l'idée avait été suggérée par Monsieur le Professeur R. HAZARD. Nous avons effectué pour tous ces dérivés résorciniques l'essai du pouvoir antiseptique *in vitro* et *in vivo* sur le lapin.

Cette étude des antiseptiques urinaires, commencée il y a plusieurs années, nous avait amenée dès ce moment à appliquer l'essai *in vivo* à un désinfectant urinaire classique, l'hexaméthylène tétramine ou urotropine, ainsi qu'à quelques composés susceptibles d'agir, comme l'urotropine, par libération de formol, et qui nous furent proposés par Monsieur DELANGE.

Enfin, plus récemment, l'avènement des sulfamides, enrichissant la thérapeutique de nombreux composés qui se sont révélés tout à fait actifs en clinique dans les infections urinaires, nous a amenée naturellement à rechercher l'application possible de la méthode d'essai *in vivo* à la paraaminobenzène sulfonamide ou sulfanilamide, type de ces composés. Nous avons en même temps effectué l'essai comparatif du dérivé glucosé de cette sulfamide dont nous avons pu apprécier la valeur dans l'infection expérimentale streptococcique.

L'exposé de nos travaux comportera donc trois parties.

Dans une *première partie*, consacrée aux dérivés de la résorcine et dont l'hexylrésorcine sera le terme de comparaison, nous examinerons la valeur antiseptique, *in vitro*, d'après la mesure du pouvoir antigénétique et du pouvoir antibiotique, et *in vivo*, dans l'urine du lapin.

Nous envisagerons ensuite la toxicité générale de ces composés et leur action irritante sur l'appareil urinaire, chez les animaux de laboratoire.

Dans une *deuxième partie*, nous exposerons, de la même façon, l'étude de composés agissant par libération de formol, l'hexaméthylène tétramine servant de terme de comparaison. L'action antiseptique *in vitro* et *in vivo* et l'action toxique et irritante seront successivement passées en revue.

Dans une *troisième partie*, nous examinerons comparativement la valeur comme antiseptiques urinaires de la paraaminobenzène sulfonamide et de son dérivé glucosé d'après l'essai de leur activité *in vivo* dans l'urine du lapin. Nous rapporterons ensuite

l'étude de l'élimination urinaire, chez le lapin, de ces deux sulfamides, en rapport avec la manifestation de leur pouvoir bactéricide. Enfin, nous examinerons leur toxicité expérimentale.

* * *

Nous devons à Monsieur le Professeur J. RÉGNIER beaucoup plus que le sujet et la direction de cette thèse. Depuis 1937, nous avons eu la joie de travailler dans son laboratoire et nous avons bénéficié non seulement de ses conseils scientifiques éclairés, mais aussi de sa constante sollicitude. Nous sommes heureuse de lui exprimer ici notre très haute estime, notre profonde reconnaissance et notre respectueux et bien sincère attachement.

Monsieur le Professeur M. JANOT a bien voulu faire partie du jury de cette thèse. Qu'il veuille trouver ici l'expression respectueuse de nos vifs remerciements.

Nous remercions Monsieur G. VALETTE, Maître de Conférences à la Faculté de Pharmacie, de la bienveillance dont il a toujours fait preuve à notre égard aux Travaux Pratiques de Microbiologie.

Nous sommes vivement reconnaissante à Monsieur R. DAVID, Chef des Travaux Pratiques de Microbiologie à la Faculté de Pharmacie, de l'intérêt qu'il nous a toujours témoigné pendant la durée de notre internat et pendant les nombreuses années passées comme monitrice aux Travaux Pratiques.

Nous ne saurions oublier Monsieur R. DELANGE à l'amabilité duquel nous avons eu recours si souvent. Qu'il trouve ici l'expression de tous nos remerciements et de notre respectueuse sympathie.

Enfin, nous nous permettons d'évoquer ici le laboratoire de l'Hôpital Ambroise Paré où nous avons connu, auprès des élèves de Monsieur le Professeur J. RÉGNIER, des années laborieuses et heureuses dans une atmosphère de parfaite camaraderie. Il nous est très agréable de remercier affectueusement Mademoiselle S. LAMBIN, Docteur ès Sciences, Assistante de Bactériologie à la Faculté de Pharmacie, qui nous a soutenue inlassablement de ses conseils précis et amicaux. Nous assurons de notre sincère amitié A. QUEVAUVILLER, Docteur en Pharmacie, Assistant du Cours de Microbiologie, et tous nos camarades de laboratoire.

PREMIÈRE PARTIE

Etude de quelques dérivés de la résorcine.

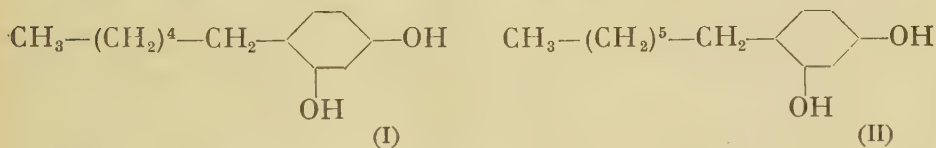
Nous avons pu étudier comparativement l'action antiseptique *in vitro* et *in vivo* d'un groupe de dérivés de la résorcine, grâce à l'obligeance de Monsieur R. DELANGE qui a préparé pour nous quelques nouveaux corps, à côté de dérivés déjà connus.

A. — Nous avons eu à notre disposition les *composés résorciniques* suivants :

1^o deux alcoylrésorcines typiques, à chaîne latérale normale située en 4, ou en ortho, par rapport aux deux oxhydriles :

hexylrésorcine = *n*-hexyl-1 dihydroxy-2,4 benzène (I)

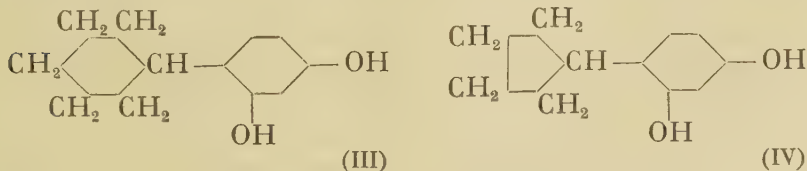
heptylrésorcine = *n*-heptyl-1 dihydroxy-2,4 benzène (II).



2^o deux dérivés à chaîne latérale, située en 4, cyclisée :

cyclohexylrésorcine = cyclohexyl-1 dihydroxy-2,4 benzène (III).

cyclopentylrésorcine = cyclopentyl-1 dihydroxy-2,4 benzène (IV).

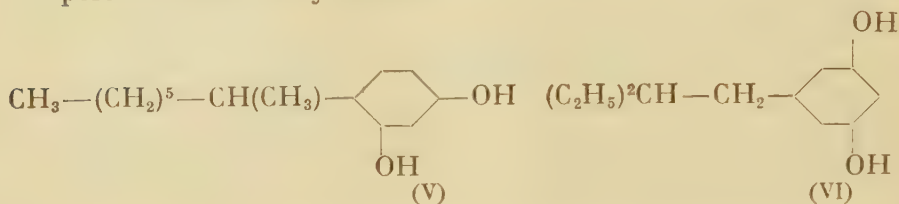


3^o deux alcoylrésorcines à chaîne latérale ramifiée :

méthylheptylrésorcine = (dihydroxy-2',4' phényl)-2 *n*-octane (V).

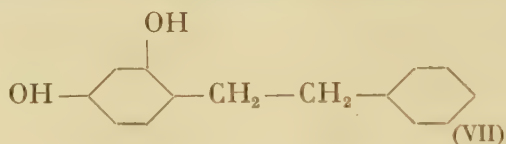
diéthyléthylrésorcine = (dihydroxy-3',5' benzyl)-3 *n*-pentane (VI).

Ce dernier dérivé est de schéma différent des précédents, la substitution sur le noyau s'effectuant en 5, ou en méta, par rapport aux deux oxydrides :



4° une arylalcoylrésorcine, dans laquelle la substitution s'effectue en 4 :

phényléthylrésorcine = dihydroxy-2,4 bibenzyle (VII).



Tous ces dérivés sont bien cristallisés et présentent les constantes suivantes :

	Point de fusion instantané	Point d'ébullition
Hexylrésorcine	68°-69°	178°-180° s/6,7 mm.
Heptylrésorcine	74°-74°5	186°-188° s/6,7 mm.
Cyclohexylrésorcine	126°	
Cyclopentylrésorcine	60°-70°	
Méthylheptylrésorcine	110°	180°-190° s/8,0 mm.
Diéthyléthylrésorcine	69°	
Phényléthylrésorcine	133°	225° s/15 mm.

Ces dérivés présentent, dans l'ensemble, les mêmes caractères de solubilité : ils sont peu solubles dans l'eau, rapidement solubles dans l'éther, le chloroforme et les huiles végétales.

Nous n'insisterons pas, d'ailleurs, sur des caractères physiques et chimiques qui ne rentrent pas dans le cadre de cette étude.

Nous nous sommes contentée d'étudier l'action antiseptique *in vitro* et *in vivo* de ces dérivés et leur toxicité pour les animaux de laboratoire.

B. — La plupart des dérivés de la résorcine présentent, ainsi que nous le verrons, une action irritante plus ou moins sensible sur les muqueuses de l'appareil digestif. Monsieur le Professeur R. HAZARD a pensé qu'il était possible d'atténuer ce caractère

agressif, commun à tous les composés phénoliques, en acétylant les deux oxhydriles libres.

Nous avons recherché le bien fondé de cette suggestion sur *deux dérivés diacétylés* préparés, comme le premier groupe de composés, par Monsieur DELANGE :

diacétylheptylrésorcine,
diacétylcyclohexylrésorcine

Ces deux composés sont liquides, le premier de consistance huileuse, le second de consistance légèrement visqueuse. Pratiquement insolubles dans l'eau, ils se mélangent aux huiles presque en toutes proportions et se dissolvent bien dans l'alcool et dans l'éther.

Nous avons apprécié la valeur de ces deux dérivés en comparant leur activité antiseptique *in vivo* et leur toxicité générale et locale avec celle des dérivés acétylés correspondants.

Dans un *premier chapitre*, consacré à l'étude de l'*action antiseptique*, nous examinerons d'abord les travaux effectués sur les dérivés de la résorcine, en particulier, les rapports entre leur constitution chimique et leur activité, puis nos propres essais sur l'activité antiseptique, *in vitro* et *in vivo*, à l'égard de germes couramment rencontrés dans les infections urinaires : staphylocoque, entérocoque, colibacille.

Dans un *deuxième chapitre*, consacré à l'étude de la *toxicité générale* et de l'*action irritante locale*, nous passerons en revue d'abord les données connues, puis les essais que nous avons pu effectuer quant à ces deux points de vue.

CHAPITRE I

Action antiseptique des dérivés de la résorcine.

Données bibliographiques sur l'étude chimique et l'action antiseptique des dérivés de la résorcine.

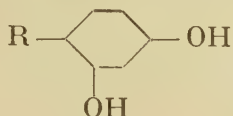
I. — DÉVELOPPEMENT DE L'ÉTUDE CHIMIQUE DES DÉRIVÉS DE LA RÉSORCINE EN FONCTION DES VARIATIONS DU POUVOIR ANTISEPTIQUE

A la suite des travaux de LISTER, le phénol a été l'antiseptique le plus largement utilisé dans les pays anglosaxons pour la désinfection des plaies et des surfaces souillées. Des recherches nombreuses ont été conduites pour obtenir des composés phénoliques actifs mais non toxiques et utilisables dans la désinfection interne. On a été amené naturellement à étudier les diphénols et en particulier la résorcine.

Les travaux les plus poussés dans cette voie ont été effectués par des auteurs américains, mais auparavant divers auteurs (BAGLIONI (1904) (3), BECHHOLD (1909) (5), BECHHOLD et EHRlich (1906) (6)), avaient constaté que la substitution de groupements méthyle dans le noyau des phénols augmentait leurs propriétés germicides tout en atténuant leur toxicité.

En 1913, en Amérique, JOHNSON et HODGE (35), proposant une méthode d'introduction des groupes alcoyles dans le noyau des mono- et des diphénols, réalisèrent la synthèse de deux homologues de la résorcine : l'éthylrésorcine et la propylrésorcine. Dans ces dérivés, la chaîne carbonée, fixée directement sur le

noyau, occupait la position 4 (« ortho » par rapport à l'un des oxhydriles et « para » par rapport à l'autre) selon le schéma général :



L'étude du pouvoir antiseptique et des propriétés biologiques des nouveaux dérivés fut aussitôt confiée à RETTGER (63) et à LEONARD (47). Ils utilisèrent pour cette étude la méthode d'essai des substances antiseptiques officielle aux Etats-Unis (« Hygienic Laboratory ») laquelle est une modification de la méthode initiale du « coefficient phénol » de RIDEAL et WALKER (66). Rappelons que cette méthode d'essai comparatif consistait à déterminer la concentration du désinfectant étudié capable de détruire une quantité donnée de germes dans le même temps que pourrait le faire une concentration donnée de phénol. Le rapport entre les concentrations germicides de la substance étudiée d'une part et du phénol d'autre part, les deux chiffres étant obtenus dans des conditions identiques, était appelé « coefficient phénol » et exprimait donc la valeur germicide relative de la substance.

RETTGER constata que l'activité bactéricide augmentait lorsqu'on passait de la résorcine à l'éthylrésorcine et à la propylrésorcine. De son côté, LEONARD observa que la propylrésorcine, administrée par voie buccale à des animaux de laboratoire, ne produisait aucun effet toxique et qu'elle s'éliminait par l'urine. Un peu plus tard, JOHNSON et LANE (1921) (36) firent la synthèse de la butylrésorcine, dont le coefficient phénol était deux fois plus grand que celui de la propylrésorcine et vingt-cinq fois plus grand que celui de la résorcine. Ils conclurent que, pour ces premiers termes au moins, l'alcoylation de la résorcine produit une augmentation du pouvoir bactéricide sensiblement proportionnelle au poids moléculaire de la chaîne latérale carbonée, en même temps qu'une atténuation de la toxicité.

A la suite de ces premières constatations, la méthode de synthèse de JOHNSON fut appliquée à la préparation de nombreux dérivés.

Les chimistes DOHME, COX et MILLER (1927) (21) préparèrent, sous forme cristallisée pure, la série des *alcoyl résorcines à chaîne normale*, de la propylrésorcine à l'octylrésorcine et jusqu'à la

dodécylrésorcine, et *quelques dérivés à chaîne ramifiée* (isobutyl-résorcine et isohexylrésorcine), ainsi que les *cétones* correspondant à chacun de ces dérivés et qui sont les termes intermédiaires dans leur préparation. L'action bactéricide de tous ces composés fut à nouveau confiée à LEONARD (47). Il trouva que, dans la série des dérivés normaux, l'hexylrésorcine, avec un coefficient phénol égal à 46, possédait un pouvoir bactéricide 150 fois plus grand que celui de la résorcine et représentait le plus puissant germicide décrit jusqu'alors ; pour l'heptylrésorcine, le coefficient phénol était moins élevé et pour l'octylrésorcine et les termes supérieurs, les propriétés bactéricides disparaissaient complètement.

Dans la suite, SCHAEFFER et TILLEY (1927) (72) obtinrent pour les homologues supérieurs (hexylrésorcine, heptylrésorcine, octylrésorcine) des coefficients phénol encore plus élevés que ceux rapportés par LEONARD. Les auteurs précédents ainsi que HAMPIL (1928) (30) constatèrent, d'autre part, que les alcoyl-résorcines présentaient un pouvoir bactéricide supérieur à celui des cétones correspondantes et des isoalcoylrésorcines.

Dans le but d'obtenir des germicides encore plus puissants que ces dérivés alcoylés et tout aussi peu toxiques, divers auteurs et surtout KLARMANN et ses collaborateurs firent alors varier la nature, le nombre et la position des substituants dans la molécule de la résorcine.

Remplaçant la chaîne alcoylée par un radical aromatique, KLARMANN (1926) (37) prépara deux arylrésorcines : la benzyl-résorcine et la phényléthylrésorcine. Leurs coefficients phénol, déterminés pour le bacille typhique, étaient respectivement de 22 et de 40, ce qui prouvait que la benzylation de la résorcine conduit à des composés plus actifs que celle du phénol ; leur toxicité pour le cobaye était assez faible.

Poursuivant ces substitutions, KLARMANN (1926) (38) fixa non plus une, mais deux chaînes carbonées. Il prépara quelques *résorcines* disubstituées : diéthyl-, dipropyl-, dibutyl- et dihexyl-résorcines. Leur pouvoir antiseptique était en général plus grand que celui des dérivés monosubstitués contenant une chaîne unique de longueur double : la dihexylrésorcine, par exemple, possédait un coefficient phénol égal à 21, tandis que la dodécyl-résorcine était pratiquement inactive. Par contre, dans quelques

cas, les combinaisons disubstituées se montraient moins actives que les monosubstituées correspondantes.

La *cyclisation de la chaîne latérale*, effectuée par TALBOT et ADAM (1927) (75), ainsi que par BARTLETT et GARLAND (1927) (4), fournit de nouveaux dérivés intéressants, mais non supérieurs : cyclohexylrésorcine, β cyclohexyléthylrésorcine et cyclopentylrésorcine. Leur coefficient phénol était élevé (24-27 pour la cyclohexylrésorcine) mais moindre que celui de l'hexylrésorcine. Signalons aussi que HILNEGARNER et JOHNSON (1929) (32), dans un but plus précis, effectuèrent des combinaisons de la résorcine avec l'acide chaulmoogrique.

Enfin, dans ces dernières années, SUTER et WESTON (1939) (74), changeant la position de la chaîne latérale (jusqu'ici fixée en 4 sur le noyau), ont synthétisé des 5-*alcoylrésorcines*. Les dérivés propyl-, butyl-, et amyl-5-résorciniques montrèrent une action bactéricide du même ordre que les dérivés 4 correspondants ; l'hexyl-5-résorcine et l'heptyl-5-résorcine étaient même un peu plus actives que les alcoyl-4-résorcines correspondantes.

Dans les études précédentes, les chercheurs considéraient uniquement la substitution de radicaux aromatiques et aliphatiques dans le noyau de la résorcine par fixation directe sur un atome de carbone. KLARMANN, GATYAS et SHTERNOV (1931) (40) eurent l'idée de fixer les substituants sur l'un des oxhydriles phénoliques, l'autre restant libre. Ces *monoéthers de la résorcine* révélèrent une activité antiseptique fort remarquable et nettement semblable à celle des dérivés correspondants substitués sur le noyau. Comme pour ceux-ci, le pouvoir bactéricide (éprouvé vis-à-vis du bacille typhique et du staphylocoque doré) augmentait avec la longueur de la chaîne alcoylée jusqu'au dérivé hexylé pour diminuer avec les termes supérieurs ; les dérivés à chaîne normale étaient plus actifs que les dérivés à chaîne ramifiée, l'éther cyclohexylé moins actif que l'éther hexylé et l'éther phénylé.

Poursuivant dans cette voie, par fixation d'une chaîne alcoyl-oxyalcoylée au lieu d'une simple chaîne alcoylée sur un oxhydrile, HURD et FOWLER (1939) (34) ont proposé, plus récemment, des *diéthers de la résorcine* : 3 de ces dérivés, doués de propriétés germicides, seraient plus actifs que les monoéthers.

En dehors de ces simples substitutions, l'halogénéation des dérivés de la résorcine allait permettre à KLARMANN et à ses

collaborateurs de vérifier la notion, établie antérieurement par BECHHOLD et EHRLICH (1906) (6), à savoir que l'introduction d'un halogène dans la molécule d'un phénol et de ses alcoyldérivés accroît beaucoup l'efficacité germicide. Dans des dérivés chlorés et bromés de la benzylrésorcine et de la phényléthylrésorcine, KLARMANN et von WOWERN (1929) (42) trouvèrent une augmentation marquée du pouvoir bactéricide, aussi bien pour le bacille typhique que pour le staphylocoque doré, surtout lorsque l'halogène était fixé en para sur le noyau non phénolique. Plus tard, cette étude étendue à de nombreux chloro- et bromophénols par KLARMANN et ses collaborateurs (*) a mis en évidence une activité quasi spécifique des dérivés bromés vis-à-vis du staphylocoque doré, les dérivés chlorés étant au contraire plus efficaces vis-à-vis du bacille typhique. Cette spécificité fut retrouvée par MOORE, DAY et SUTER (1934) (57) dans un certain nombre de dérivés halogénés de la résorcine et de la butylrésorcine, mais de nombreuses exceptions empêchèrent sa généralisation.

Par ailleurs, l'introduction d'un groupement carboxyle, réalisée par quelques auteurs, en diverses positions, fournit des résultats assez divergents. L. BLEYER (11) a retrouvé dans la série des acides alcoylrésorcinolcarboniques la même relation que dans les alcoylrésorcines : le pouvoir bactéricide croissait avec la longueur de la chaîne et atteignait un maximum pour les dérivés hexylé et heptylé. Ayant préparé des termes plus complexes, H. STENZL (1929) (73) a proposé l'emploi de quelques acides carboxyliques correspondant à des alcoyl- et aralcoylrésorcines dans la désinfection urinaire interne.

Toutefois, MOORE, DAY et SUTER (1934) (57), qui ont comparé de nombreux dérivés de la butylrésorcine, ont constaté une réduction considérable de l'activité par l'introduction d'un groupement carboxyle.

Les mêmes principes d'investigation qui ont conduit à la construction des dérivés de la résorcine ont été appliqués également à d'autres phénols. C'est ainsi que KLARMANN et FIGDOR (1926) (39), partant de la phloroglucine, corps non antiseptique, ont

(*) KLARMANN, SHTERNOV et von WOWERN (1929) (41) : L'halogénéation de la résorcine conduit à des composés plus fortement désinfectants que la résorcine elle-même, mais non comparables cependant aux alcoylrésorcines (c'est l'inverse dans le cas du phénol).

vu les propriétés bactéricides apparaître et croître dans les dérivés alcoylés et arylés. Le coefficient phénol atteignait des valeurs voisines de 8 avec les composés les plus actifs comme l'hexylphloroglucine. On retrouvait donc ici, mais à un degré plus bas, la même influence des substituants que dans la résorcine.

Parmi les homologues du phénol, le crésol, choisi par COULTHARD, MARSHALL et PYMAN (1930) (17), a fourni des dérivés alcoylés dans lesquels la valeur du coefficient phénol augmente jusqu'à la chaîne en C⁵ pour s'abaisser ensuite : le 4 n-amylméta-crésol, homologue du thymol, fortement germicide (10 fois plus que le thymol et 250 fois plus que le phénol) et très peu toxique, a été spécialement étudié comme antiseptique urinaire par les auteurs précédents.

De ces divers travaux, il ressort que ce sont surtout les alcoyl-résorcines à chaîne normale qui ont été le sujet d'études biologiques nombreuses.

Nous allons exposer en détail les résultats de ces essais ; nous examinerons successivement l'action des alcoylrésorcines sur les bactéries, *in vitro* et *in vivo*, et leur action sur divers autres organismes. Nous verrons que cette expérimentation a abouti à l'utilisation de quelques termes comme antiseptiques usuels et plus spécialement comme antiseptiques internes urinaires (hexylrésorcine) ou intestinaux (butylrésorcine).

II. — ACTION ANTISEPTIQUE DES ALCOYLRÉSOSCINES

L'action antiseptique des alcoylrésorcines a surtout été étudiée sur les bactéries. On a cependant essayé également leur activité vis-à-vis de protozoaires et de divers parasites intestinaux.

A. — Action sur les bactéries.

Nous examinerons tout d'abord les travaux relatifs à l'action antibactérienne ; d'une part, les essais réalisés *in vitro* et d'autre part, les expériences faites sur l'animal et sur l'homme.

1^o ACTION IN VITRO.

A la suite de leurs premières observations sur la forte activité antiseptique des alcoylrésorcines et particulièrement de l'hexyl-

résorcine, vis-à-vis du bacille typhique, RETTGER et LEONARD, et avec eux, divers auteurs, recherchèrent l'activité de ces dérivés vis-à-vis d'autres espèces bactériennes et ses modifications en fonction de diverses conditions expérimentales : composition du milieu, réaction, tension superficielle, température.

a) *Action des alcoylrésorcines sur diverses espèces microbiennes.*

L'étude de l'action antiseptique *in vitro* des alcoylrésorcines a tout d'abord porté sur le colibacille et sur le staphylocoque.

En effet, LEONARD (1924) (47), après avoir constaté le passage des premiers dérivés de la résorcine dans l'urine des animaux après administration buccale, pensa à utiliser l'hexylrésorcine comme antiseptique urinaire. Il effectua donc une série d'essais *in vitro* afin de déterminer les dilutions de ce composé, dans l'eau et dans l'urine humaine, actives vis-à-vis de souches de colibacille et de staphylocoque blanc, isolées de pyélites. Les dilutions maxima détruisant, après 1 heure de contact, le bacille coli, étaient de 1/12.000 dans l'eau et 1/10.000 dans l'urine ; pour le staphylocoque blanc, elles étaient de 1/100.000 dans l'eau et 1/60.000 dans l'urine. La sensibilité du staphylocoque, bien que notablement atténuée en présence d'urine, était donc nettement plus grande que celle du colibacille.

Cette observation fut confirmée et prit un sens plus large dans des expériences intéressantes des séries d'alcoylrésorcines. SCHAEFFER et TILLEY (1927) (72) observèrent, par simple mesure du coefficient phénol, que non seulement l'hexylrésorcine, mais les dérivés supérieurs, heptylrésorcine et octylrésorcine, étaient beaucoup plus actifs contre le staphylocoque doré que contre le bacille typhique. Dans le même temps, HAMPIL (1928) (30), recherchant les variations du pouvoir antiseptique chez les dérivés de la résorcine, étendit ses expériences à 5 organismes différents : bacille lactis aerogenes, bacille typhique, bacille coli, staphylocoque blanc, bacille xerosis. Il constata que l'activité bactéricide, *in vitro* et à 37°, des dérivés inférieurs, propylrésorcine, butylrésorcine et amylrésorcine, ne variait pas sensiblement d'un germe à l'autre. Par contre, l'activité bactéricide des dérivés supérieurs, hexylrésorcine, heptylrésorcine et octylrésorcine, était 3 à 5 fois plus grande contre le staphylocoque

blanc et le bacille xerosis, organismes gram positifs, que contre le bacille typhique, le bacille coli et le bacille lactis aerogenes, organismes gram négatifs. Pour cet auteur, le pouvoir antiseptique avait un caractère général chez les premiers termes et montrait une certaine spécificité chez les seconds. D'après d'autres auteurs, cependant, cette spécificité se ferait sentir également pour les termes inférieurs.

Ainsi, RETTGER, VALLEY et PLASTRIDGE (1929) (64), effectuant l'étude détaillée d'un terme inférieur, la butylrésorcine, conclurent que, d'une façon générale, les microorganismes gram positifs étaient plus sensibles que les microorganismes gram négatifs, à l'exception du vibron cholérique. Alors qu'une solution à 1/12.000 de butylrésorcine détruisait, en trois minutes de contact, les bactéries gram positives étudiées, une solution à 1/2.500 était nécessaire pour détruire la plupart des bactéries gram négatives, et même 1/2.000 pour les bacilles typhique, paratyphique A et coli; le vibron cholérique, beaucoup plus sensible, était détruit avec une solution à 1/30.000.

Un point de vue spécial, celui de la résistance acquise par les souches bactériennes à l'action des antiseptiques, a été étudié par FEIRER, MEADER et LEONARD (1926) (27) pour le bacille coli et le bacille lactis aerogenes à l'égard de divers antiseptiques minéraux et organiques dont l'hexylrésorcine. Ces auteurs ont constaté que la résistance acquise par ces bactéries peut être très grande à l'égard de certains antiseptiques et qu'elle est tout à fait spécifique. En exposant des cultures des deux germes cités à l'action de l'hexylrésorcine, ils n'observèrent au plus qu'une faible tolérance à l'égard de cet antiseptique, en même temps qu'apparaissait une sensibilité plus grande à l'égard d'autres antiseptiques.

b) Variations de l'activité en fonction du milieu d'action.

Les divers auteurs ont recherché surtout, dans ce domaine, les modifications apportées à l'activité des alcoylrésorcines par la présence de substances organiques.

En effet, l'affaiblissement du pouvoir bactéricide des composés phénoliques par les matières organiques est une notion classique. BECHHOLD et EHRLICH (1906) (6), puis LAUBENHEIMER (1909) (46) avaient montré que les dérivés alcoylés et les dérivés halo-

génés du phénol n'agissaient pas en présence de sérum. Sur ce sujet, SABALITSCHKA (1928) (70) devait apporter plus tard un important travail.

Dans les dérivés de la résorcine, KLARMANN (1929) et ses collaborateurs ont constaté pour les composés halogénés de la résorcine (KLARMANN, SIITERNOV et von WOWERN (11)), de la benzyl-résorcine et de la phényléthylrésorcine (KLARMANN et von WOWERN (12)), une réduction considérable du pouvoir germicide en présence de peptone ; ils observèrent, en particulier, que l'inactivation était plus faible pour une arylrésorcine non halogénée que pour une arylrésorcine halogénée.

Dans le groupe des alcoylrésorcines, qui nous intéresse surtout, l'influence des substances organiques a été estimée avec quelques divergences. S'il faut en croire HAMPIL (1928) (30), les alcoyl-résorcines perdent progressivement une partie de leur activité bactéricide en présence de matière organique et à 37°. L'effet inhibiteur commence avec la butylrésorcine et augmente progressivement jusqu'à l'octylrésorcine où il y a une perte totale du pouvoir désinfectant : l'hexylrésorcine peut perdre jusqu'à 70 % de son activité, l'heptylrésorcine 80 %. HAMPIL faisait remarquer que ces résultats variaient beaucoup selon l'espèce de peptone (peptone de Witte, peptone « Difco ») utilisée dans la composition de la matière organique.

Ainsi, pour la butylrésorcine, RETTGER et ses collaborateurs (64) n'ont pas constaté de diminution notable du pouvoir bactéricide en présence de peptone, de gélatine et d'une petite quantité de sérum sanguin ; en présence de 10 % de sérum, le pouvoir bactéricide était notablement atténué mais restait encore très manifeste.

Quant à l'hexylrésorcine, nous avons déjà vu les essais comparatifs, en présence d'eau et en présence d'urine humaine, effectués par LEONARD (1921) : l'action antiseptique était légèrement atténuée dans l'urine, surtout vis-à-vis du staphylocoque. Cependant, dans la suite, LEONARD (1927) (49), envisageant l'utilisation de l'hexylrésorcine comme antiseptique général pour la désinfection des surfaces des tissus, étudia, avec FEIRER, la composition optima d'un solvant n'affaiblissant pas le pouvoir bactéricide de l'hexylrésorcine. Une solution à 1 p. 1.000 d'hexyl-résorcine dans un mélange contenant 30 % de glycérine et 70 % d'eau, était capable de détruire en 15 secondes la plupart des

bactéries pathogènes et conservait ce pouvoir en présence de 2 % de peptone et de 1 % de gélatine.

De même, plus récemment, WOODWARD, GLENN, KINGERY et WILLIAMS (82) n'ont observé qu'un léger affaiblissement de l'efficacité de l'hexylrésorcine en présence des albumines du bouillon et du sérum sanguin. Enfin, la possibilité d'utiliser l'hexylrésorcine pour la conservation de produits alimentaires a amené POE et FEHLMANN (1934) (59) à rechercher la valeur antiseptique dans ces conditions particulières : ils ont constaté une réduction très nette de la quantité des bactéries dans les aliments acides tels que les tomates, mais une action préservatrice nulle ou très réduite dans les aliments protéiniques, lait, viande et œufs.

Comme le faisait remarquer déjà HAMPIL, on peut expliquer ces grandes variations par la qualité et par la quantité de la matière organique considérée.

c) *Variations d'activité avec les conditions physico-chimiques.*

Quelques essais ont été effectués *in vitro*, afin de rechercher l'influence exercée sur l'activité des alcoylrésorcines par la modification de diverses conditions physico-chimiques, en particulier de la réaction du milieu, de la tension superficielle et aussi de la température de l'essai.

1° *Réaction du milieu.* — La réaction du milieu peut intervenir dans l'action antiseptique à un double point de vue, suivant que l'on considère les conditions vitales des agents pathogènes ou bien les conditions d'action d'un antiseptique donné. Les pH optima et les pH les plus défavorables pour le développement de diverses bactéries pathogènes ont été étudiés par de nombreux auteurs qui ont tous constaté d'assez grandes différences suivant les microbes. Ainsi, REIS et BECKMANN (1924) (62) ont trouvé pour le bacille coli, une concentration optima en ions H de 6,5 et pour le staphylocoque doré, de 7,4.

Les premiers essais *in vitro* effectués par LEONARD (1924) avec l'hexylrésorcine ne montrèrent pas de différence sensible dans l'action sur le bacille coli et le staphylocoque blanc, suivant que la réaction de l'urine était acide (pH = 6 à 6,4) ou alcaline (pH = 7,6 à 8,2). Ces variations du pH, susceptibles d'être

rencontrées dans l'organisme, étaient, il est vrai, de peu d'ampleur. Récemment, BITTENBEDER, DEGERING et TÉTRAULT (1939) (10) ont étudié l'effet du pH sur les propriétés bactéricides de divers antiseptiques commerciaux, dont l'hexylrésorcine, vis-à-vis du staphylocoque doré et du colibacille ; l'hexylrésorcine (de même que le phénol et la teinture d'iode) présentait une activité supérieure pour de faibles valeurs du pH et, plus spécialement, des variations considérables quand le pH passait de 3 à 4, l'activité passant de 100 à 5. Il est permis, d'en conclure, en rapprochant ces résultats des constatations de POE et FEHLMANN (59) sur la conservation de produits alimentaires acides, que, si le pouvoir bactéricide de l'hexylrésorcine varie peu dans une zone de pH assez voisine de la neutralité, il semble très augmenté dans une zone fortement acide.

Ce serait vrai aussi pour la butylrésorcine, car RETTGER (64) et ses collaborateurs, opérant avec des solutions de butylrésorcine dont les pH s'échelonnaient de 3 à 9, n'ont pas noté de variations sensibles du pouvoir germicide après 28 jours de conservation à la température du laboratoire ; mais, après une longue conservation, ils ont observé que les solutions neutres et alcalines étaient plus affaiblies que les solutions acides.

Signalons que l'accroissement du pouvoir antiseptique des alcoylrésorcines jusqu'à l'hexylrésorcine, en présence de 1 % de carbonate de soude, n'a pas été interprété par HAMPH. (30) comme résultant d'une alcalinisation du milieu, mais plutôt d'une augmentation de la solubilité des dérivés résorciniques dans l'eau.

2) *Tension superficielle*. — C'est surtout le facteur « tension superficielle » qui a suscité les observations les plus significatives, susceptibles d'expliquer le mécanisme d'action de ces dérivés. Le rôle de la tension superficielle dans l'activité des alcoylrésorcines devait être mis en lumière par LEONARD, tant *in vivo* qu'*in vitro*.

Il faut se rappeler, en effet, que, en raison de la grande surface offerte par les germes aux substances antiseptiques dans le mécanisme de l'action bactéricide, les forces d'adsorption, d'osmose et de diffusion interviennent au plus haut point. Or, ces forces sont considérablement modifiées par des variations de la tension superficielle. BILLARD et DIEULAFÉ (1904) (9) montrèrent, les premiers, que l'absorption et les échanges osmotiques, dans les

tissus animaux et végétaux, étaient accélérés par un abaissement de la tension superficielle, et BECHHOLD (1909) (5) étudia le rôle de ce facteur dans les phénomènes d'adsorption. Les recherches de BERCZELLER (1914) (7) confirmèrent l'existence d'un rapport entre l'activité pharmacodynamique, et plus spécialement l'action désinfectante de divers phénols, et la tensio-activité. Or, à ce sujet, il faut noter la propriété particulièrement intéressante que possède l'hexylrésorcine de réduire la tension superficielle, presque aussi intensément que l'oléate de soude. Cette propriété, mise en évidence par LEONARD et FROBISHER (1926) (51) dans des expériences comparatives, éclaire bien des particularités de l'action de l'hexylrésorcine *in vitro*, et, nous le verrons plus loin, *in vivo*. Ainsi, d'après LEONARD et FEIRER (50), l'hexylrésorcine se montre moins antiseptique en solution glycinée qu'en solution aqueuse, du fait que la tension superficielle est moins abaissée dans la glycérine que dans l'eau. Ces derniers auteurs ont expérimenté des solutions contenant des proportions variées de ces deux solvants et se sont arrêtés à un mélange contenant 30 % de glycérine et 70 % d'eau, dans lequel est dissout un milligramme d'hexylrésorcine cristallisée par centimètre cube ; cette solution, dite « S. T. 37 » possède une tension superficielle très basse (37 dynes par cm^2) et doit représenter une composition antiseptique parfaitement stable et non toxique. C'est avec cette solution que LEONARD et FEIRER ont observé l'action antiseptique de l'hexylrésorcine en un temps très court, vis-à-vis de la plupart des bactéries pathogènes.

Poursuivant ses recherches dans ce sens, FROBISHER (1917) (28) effectua des essais sur deux séries de dérivés homologues, alcoyl- et acylrésorcines, allant de la résorcine à la dodécyl- et à la dodécylrésorcine ; il conclut qu'il existe, dans le cas de ces dérivés, un rapport direct entre le pouvoir bactéricide et la tensio-activité, au moins jusqu'aux termes à 6 ou 7 atomes de carbone dans la chaîne latérale ; au delà, le pouvoir bactéricide décroît, bien que la tensio-activité persiste. Partant de ces données, FROBISHER a cherché à accroître le pouvoir bactéricide du phénol et de l'hexylrésorcine, vis-à-vis du bacille typhique, en abaissant encore la tension superficielle par addition d'une quantité convenable d'oléate de soude ou d'acétate d'éthyle. Il constata alors la nécessité de limiter la quantité d'oléate de soude ajoutée, un excès étant susceptible de réduire énormément l'activité des

deux antiseptiques. Il faut noter à ce sujet les propriétés toutes particulières des savons : FROBISHER a pensé que le savon exerçait une action colloïdale protectrice sur les bactéries, en se basant, par analogie, sur les travaux effectués par PAPACONSTANTINOU (1925) (58) qui démontra, par la mesure du « nombre d'or » de ZSIGMONDY, l'action protectrice exercée par des savons sur la stabilité des solutions colloïdales.

HAMPIL (1928) (30) a vérifié l'action inhibitrice de savons purs (oléate et myristate de sodium, palmitate et stéarate de potassium) sur les propriétés bactéricides de divers composés phénoliques, en particulier la butylrésorcine et l'hexylrésorcine. En tenant compte des travaux précédents, il a envisagé plusieurs hypothèses, soit qu'il se produise une réaction chimique entre le savon et le composé phénolique, soit plutôt qu'intervienne un mécanisme physico-chimique, le savon paraissant repousser le phénol de la solution.

RETTGER (1929) (64) a noté que la butylrésorcine perdait approximativement 50 % de ses propriétés germicides en présence de savon, et attribua ce fait à un processus physique ou mécanique plutôt que chimique.

Quel que soit ce mécanisme, il en résulte pratiquement l'impossibilité de préparer un savon antiseptique à l'hexylrésorcine autrement qu'en introduisant une grande quantité de dérivé résorcinique.

3) *Température.* — La mesure du pouvoir antiseptique des alcoylrésorcines a conduit HAMPIL (30) d'une part, SCHÄEFFER et TILLEY (72) d'autre part, à des conclusions identiques : alors qu'à 20°, les termes les plus actifs, vis-à-vis du bacille typhique, sont l'hexyl-et l'heptylrésorcine, à 37° et à 45°, le maximum d'activité se trouve pour les termes supérieurs, octyl-et nonylrésorcine. TIEFFENEAU (1933) (77) estimait à ce propos (en comparaison avec ce qui se passe pour l'action anesthésique des aryl-dialcoylglycols sur le poisson), qu'il faut y voir une action générale de la température, produisant sur les termes élevés une augmentation de la perméabilité cellulaire, de même sans doute qu'une diminution de la tension superficielle.

2° ACTION IN VIVO.

Dès qu'il eût éprouvé le pouvoir antiseptique *in vitro* des premiers dérivés de la résorcine, LEONARD (47 et 48) entreprit l'expérimentation sur l'animal et tout particulièrement sur le lapin. Ces essais lui permirent de constater que les alcoylrésorcines sont excrétées dans l'urine des lapins après administration buccale et que cette excrétion confère fréquemment à l'urine un pouvoir bactéricide.

Rapprochant ces importantes données de celles recueillies *in vitro*, LEONARD et ses collaborateurs réalisèrent chez le lapin, puis chez l'homme, une expérimentation minutieuse en vue d'assurer l'antisepsie urinaire ; dans la suite, des essais d'antisepsie intestinale furent aussi effectués. De même que dans les essais *in vitro*, les premiers essais sur l'animal furent particulièrement encourageants avec l'hexylrésorcine et l'heptylrésorcine.

D'autre part, LEONARD put constater que l'augmentation du pouvoir bactéricide dans la série des alcoylrésorcines s'accompagne d'une diminution de la toxicité directement proportionnelle au poids moléculaire de la chaîne grasse.

Nous allons rapporter les résultats essentiels de l'étude de l'élimination des alcoylrésorcines, laquelle est évidemment liée à leur action bactéricide *in vivo* dans l'urine. Nous examinerons la toxicité de ces corps dans le second chapitre de cet exposé.

a) *Élimination des alcoylrésorcines dans l'organisme.*

Le passage des alcoylrésorcines dans l'urine des lapins, après administration buccale, fut découvert par LEONARD (1924) pour la propylrésorcine, dont les solutions donnent avec le perchlorure de fer une coloration rouge brun ; les dérivés supérieurs, qui ne présentent pas cette réaction, furent caractérisés par une réaction colorée de la résorcine, fournie par l'acide azotique à chaud, après destruction de la chaîne alcoylée. A côté de ces réactions chimiques, la détermination du pouvoir bactéricide de l'urine des animaux traités par les dérivés résorciniques, permit à cet auteur une évaluation de l'élimination de ces dérivés. Cependant, LEONARD constata fréquemment qu'il n'y avait pas correspondance entre l'activité bactéricide et la réaction colorée fournie par un échantillon d'urine après ingestion d'hexylrésorcine.

Ceci l'amena à penser qu'une grande partie de l'hexylrésorcine ingérée était éliminée dans l'urine à l'état de dérivé conjugué, dépourvu d'action bactéricide ; de plus, la substance ingérée n'était pas totalement absorbée dans l'organisme et pouvait être caractérisée dans les matières fécales, en utilisant la même réaction colorée que dans l'urine.

Aussi, certains auteurs tels que RATCLIFF (1929) (60) s'occupèrent-ils de cette caractérisation dans les matières fécales. Cet auteur administra à des rats, par voie buccale, une série de dérivés à chaîne normale : butyl-, hexyl-, heptyl-, et octylrésorcine. La réaction chimique de caractérisation, effectuée sur le contenu intestinal de ces animaux, après ingestion de la butylrésorcine, était à peine sensible, mais, avec les dérivés supérieurs, la réaction s'intensifiait progressivement, atteignant un maximum après ingestion du dérivé octylé. ELLIOT et BARBOUR (1925) (23) qui étudièrent l'hexylrésorcine à la suite des travaux de LEONARD, fournirent des réactions qualitatives permettant de déceler ce dérivé dans les tissus, le liquide cébrospinal, l'urine et le contenu intestinal. Un peu plus tard (1931), LEONARD et FEIBER (50) appliquèrent une réaction de BARBOUR à la recherche de l'heptylrésorcine dans l'urine des animaux. Ils constatèrent ainsi que l'élimination de ce dérivé était sensible 1 heure à 3 heures après absorption d'une dose massive, mais irrégulière après administration de doses moins importantes ; par contre, en effectuant cette recherche dans les selles, l'élimination était forte, ce qui est en accord avec les observations de RATCLIFF.

En ce qui concerne l'étude quantitative, des essais furent effectués par B. H. ROBBINS (67, 68 et 69) sur l'absorption et l'excrétion de l'hexylrésorcine et de l'heptylrésorcine, d'abord chez l'animal, puis chez l'homme. Il détermina sur le chien les quantités relatives de ces deux composés retrouvées dans l'urine et dans les matières fécales, après administration de doses bien déterminées et sous des conditions de régime connues.

L'essai quantitatif était basé sur une réaction colorée de la résorcine, effectuée après extraction avec 3 à 4 parties d'alcool à 95° : une petite quantité de la mixture alcoolique, additionnée de 2 à 3 gouttes d'acide chlorhydrique concentré (pour dissocier le dérivé conjugué) est évaporée au bain-marie ; le résidu acide est alors extrait avec 3 parties de chloroforme et la solution chloroformique est évaporée au bain-marie, après addition de

2 cm³ de soude à 5 %. Il se développe une coloration rose qu'on peut comparer à celle fournie par un standard. Cette réaction est très sensible et applicable à l'hexyl- et à l'heptylrésorcine.

Les essais furent effectués sur des chiens pesant de 15 à 25 kgr. qui reçurent, par voie buccale, dans ces expériences, des doses de 1 gr. des produits étudiés. Avec l'hexylrésorcine, ROBBINS retrouva 29 % de la substance ingérée dans les urines et 67 % dans les fèces. En augmentant la dose ingérée, l'excrétion dans l'urine s'élevait, mais non en proportion de l'augmentation de la dose. Comme LEONARD, ROBBINS estimait que, dans l'urine, la plus grande partie de l'hexylrésorcine (95 %) devait être à l'état conjugué, et dans les matières fécales, à l'état libre. Il observa que le pourcentage d'hexylrésorcine excrétée dans l'urine se trouvait abaissé par l'ingestion simultanée ou consécutive d'huile d'olive ou d'huile de paraffine. Il ne put déceler l'hexylrésorcine dans les tissus, même après administration d'une forte dose, la réaction utilisée n'étant pas assez sensible pour caractériser les traces de dérivé résorcinique. Avec l'heptylrésorcine, l'absorption était beaucoup plus faible : 1 % seulement de la quantité ingérée fut retrouvée dans l'urine et 96 % dans les fèces.

Quelques années après ces expériences sur l'animal (1934), ROBBINS (68) reprit, chez l'homme, l'étude de l'excrétion de l'hexylrésorcine, comparativement à différents alcoylphénols.

Après ingestion d'une dose d'un gramme d'hexylrésorcine, il retrouva, dans les 12 heures suivant l'ingestion, 18 % du produit dans les urines et 64 % dans les selles. Un pourcentage important, fixé probablement dans les tissus, échappait à cette évaluation ; l'excrétion dans l'urine était plus faible chez l'homme que chez le chien.

En résumé, les essais qualitatifs et quantitatifs sont tous d'accord pour montrer que la plus grande partie de ces alcoylrésorcines s'élimine dans les fèces et que seulement une faible partie s'élimine dans l'urine.

Nous allons examiner maintenant les propriétés bactéricides que peut présenter l'urine par la présence de cette petite quantité de dérivé résorcinique. Nous verrons, ensuite, l'influence exercée sur les bactéries rencontrées dans l'intestin.

b) *Propriétés bactéricides de l'urine, après administration d'alcoylrésorcines.*

Le pouvoir bactéricide de l'urine émise après l'administration buccale de dérivés résorciniques fut d'abord éprouvé chez le lapin, puis, pour les dérivés les plus actifs, vérifié chez l'homme.

1° *Chez le lapin.* — Les essais sur l'animal ont été effectués par LEONARD suivant une technique personnelle que nous exposerons en détail, dans un chapitre ultérieur, avec nos propres essais, lesquels ont été réalisés selon cette technique. Notons seulement que le pouvoir bactéricide, vis-à-vis du bacille coli et du staphylococoque blanc, était recherché sur des échantillons d'urine prélevés aseptiquement à divers temps au cours des 24 heures suivant l'introduction de la substance essayée dans les voies digestives.

Après administration buccale au lapin de toute une série d'alcoylrésorcines, allant de la butylrésorcine à l'heptylrésorcine, l'auteur constata l'excrétion plus ou moins régulière d'urine bactéricide ; seules, l'hexyl- et l'heptylrésorcine donnèrent lieu assez constamment à l'émission d'urine bactéricide.

Ainsi, après administration de doses uniques d'hexylrésorcine, allant de 0,20 gr. à 0,50 gr., LEONARD (47) constata que 68 % des échantillons d'urine recueillis dans les 24 heures suivantes étaient bactéricides. En ce qui concerne le rythme de l'élimination, le pourcentage d'échantillons bactéricides croissait rapidement pendant les 4 premières heures après l'ingestion : 53 % après 1 heure, 75 % après 2 heures, 92 % après 3 heures ; puis, ce pourcentage baissait pendant les heures suivantes, atteignant encore 56 % après 18 heures. Une dose de 0,10 gr. d'hexylrésorcine, qui représentait seulement le 1/25 de la dose tolérée par le lapin, a même été suivie de l'émission d'urine bactéricide. Le passage de l'hexylrésorcine dans l'urine se faisait donc rapidement dans les premières heures après l'introduction dans les voies digestives et les propriétés bactéricides apparaissaient quelle que fût la réaction de l'urine sécrétée par les lapins. Cependant, le colibacille était plus sensible en urine acide et le staphylococoque plus sensible en urine alcaline.

LEONARD essaya d'autres voies d'introduction de l'antiseptique. L'injection intraveineuse de diverses alcoylrésorcines ne

produisit jamais l'excrétion d'urine bactéricide ; d'ailleurs, au moins avec les dérivés inférieurs, il se forma fréquemment une escarre au point d'injection. Par contre, après administration rectale d'hexylrésorcine, l'urine sécrétée présentait rapidement des propriétés bactéricides.

2° Chez l'homme. — Après ces essais sur le lapin, l'hexylrésorcine fut éprouvée sur l'homme normal par LEONARD.

Cette expérimentation montra qu'après ingestion de doses de 0,25 gr. à 0,50 gr. d'hexylrésorcine, renouvelées 3 fois par jour, l'urine excrétée était capable de tuer le bacille coli et le staphylocoque blanc : 60 % des échantillons d'urine recueillis furent trouvés bactéricides pour l'un ou l'autre, ou pour ces deux organismes. Avec des doses plus faibles, l'action bactéricide était exceptionnelle. Le rythme de l'élimination était à peu près le même chez le lapin ; les pourcentages d'échantillons bactéricides, dans les heures suivant l'ingestion, étaient de 63 %, de la fin de la 1^{re} heure au début de la 3^e heure, 66 % de 3 heures à 5 heures, 75 % de 6 heures à 8 heures et 45 % de 15 heures à 20 heures. Comme chez l'animal, on notait, d'ailleurs, de fortes variations individuelles.

A l'inverse des résultats obtenus *in vitro*, le bacille coli se montra, dans ces essais *in vivo*, plus sensible que le staphylocoque blanc.

L'heptylrésorcine, expérimentée dans les mêmes conditions, montra une action bactéricide plus faible que l'hexylrésorcine : ceci fut expliqué ultérieurement par les essais de ROBBINS qui, comme nous l'avons vu ci-dessus, put constater la faible élimination de l'heptylrésorcine dans l'urine.

c) Action bactéricide dans l'intestin, après administration d'alcoylrésorcines.

Comme nous l'avons vu précédemment, les recherches qualitatives puis quantitatives sur l'élimination des alcoylrésorcines dans l'organisme de l'homme et des animaux, après administration buccale, révélèrent qu'une très forte proportion de ces dérivés, non absorbée dans le tube digestif, se retrouve dans le contenu intestinal. Cette constatation suggéra tout naturellement la possibilité d'une action antiseptique de ces substances dans l'intestin.

Dans ce but, RATCLIFF (1929) (60) soumit des rats à l'administration quotidienne, répétée pendant 15 jours, de petites doses d'un groupe de dérivés résorciniques, butyl-, hexyl-, heptyl-, et octylrésorcine. Avant, pendant et à la fin du traitement, il effectua des numérations bactériennes sur les matières cœcales de ces animaux, prélevées aseptiquement par ponction, et il observa un changement rapide et frappant de la flore intestinale. En effet, les bactéries gram positives (lactobacilles principalement), présentes normalement, avaient disparu complètement au cours du traitement, remplacées par des organismes gram négatifs, où prédominait le bacille *aerogenes*. Il faut noter que l'on retrouve ici, comme dans les essais *in vitro* et *in vivo* dans l'urine, la sensibilité particulière des organismes gram positifs à l'action des antiseptiques.

Une observation identique fut faite, presque en même temps, par RETTGER, VALLEY et PLASTRIDGE (1929) (64), opérant aussi sur des rats blancs, avec la butylrésorcine. L'administration buccale répétée de ce dérivé amena la disparition rapide des bactéries lactiques et de divers types de bactéries normalement rencontrées dans l'intestin et l'apparition bientôt prédominante d'une bactérie qui semblait être le bacille *aerogenes*.

Au cours de ses essais, RATCLIFF avait constaté l'action particulièrement nette des dérivés supérieurs, heptyl- et octylrésorcine, en même temps que la forte élimination de ces composés dans les matières fécales. Or, LEONARD (1931) (50), qui avait proposé l'heptylrésorcine (dénommée commercialement Dihydranol) d'abord comme antiseptique urinaire, en même temps que l'hexylrésorcine, rechercha son action antiseptique dans l'intestin. Il éprouva, chez l'homme, l'effet de l'ingestion de ce dérivé sur la flore intestinale en effectuant la mesure des propriétés putréfiantes des selles par une méthode bactériologique simple. Il constata que l'administration d'heptylrésorcine, chez l'homme, à des doses de 0,30 gr. à 0,40 gr., répétées 3 fois par jour, amenait rapidement la disparition des bactéries putréfiantes de l'intestin.

Nous verrons plus loin que l'action antiseptique des dérivés de la résorcine, dans l'intestin, s'exerce non seulement sur les bactéries mais aussi sur les nombreux parasites animaux susceptibles d'y causer des infections.

d) *Conditions d'administration, envisagées pour l'hexyl-résorcine, dans l'antisepsie urinaire.*

A la suite des derniers essais sur l'homme, qui mettaient spécialement en évidence l'activité antiseptique de l'hexylrésorcine par son élimination dans l'urine, LEONARD passa à l'expérimentation clinique de ce dérivé. Des essais de traitement d'infections urinaires chroniques purent confirmer les résultats de l'expérimentation au laboratoire.

LEONARD (48) proposa dès lors une large utilisation de ce dérivé qui fut mis en circulation sous les noms de Caprokol ou Hexorcène. Etant donné l'insolubilité du produit dans l'eau, et, nous le verrons plus loin, l'inconvénient du produit à l'état cristallisé, LEONARD préconisa l'emploi de capsules de gélatine renfermant 0,15 gr. d'hexylrésorcine dissoute dans 0,45 gr. d'huile d'olive. Les objections concernant l'altération possible sous cette forme médicamenteuse ont été levées dans la suite, par LEONARD et FEIRER (1926) (26) qui ont vérifié que cette préparation pouvait se conserver parfaitement pendant au moins un an.

Les doses utilisables avec efficacité sont de 0,30 gr. à 0,45 gr. et jusqu'à 0,60 gr., trois fois par jour. Les règles de la thérapeutique des infections urinaires par l'hexylrésorcine ont été exposées par LEONARD et WOOD (1925) (52) et sont basées sur l'étude du mécanisme d'action : nous allons les retrouver à ce propos.

L'heptylrésorcine, sous le nom de Dihydranol, a été proposée par LEONARD comme antiseptique urinaire, aux mêmes doses que l'hexylrésorcine, mais, par la suite, ce dérivé devint surtout un antiseptique intestinal.

A la suite de LEONARD et de ses collaborateurs, de nombreux auteurs, et surtout des auteurs américains, ont vérifié l'action de l'hexylrésorcine au laboratoire comme en clinique. ELLIOT et BARBOUR (23) confirmèrent les résultats de LEONARD et s'appliquèrent plus spécialement à la recherche de l'hexylrésorcine dans l'organisme. L'action favorable de l'hexylrésorcine dans les infections urinaires a été rapportée, en particulier, par HENLINE (1925) (31), EBERBACH et ROY (1925) (22), BROWN (1926) (12). LEONARD prévoyait (1924) (48), d'après les essais de laboratoire effectués sur le lapin et sur l'homme, que l'hexylrésorcine se montrerait plus efficace dans les infections à bacille coli que dans celles à staphylocoque ; or, en clinique, il observa l'inverse. Il

fit remarquer, à ce propos, que l'hexylrésorcine était capable d'assurer la désinfection de l'urine, mais non pas celle du parenchyme rénal. BROWN (2) fit des observations analogues à celles de LEONARD et constata que l'hexylrésorcine guérit très rapidement et complètement des infections vésicales aiguës dues à des staphylocoques ; il trouva, cependant, que les infections à bacille coli sont moins résistantes à l'hexylrésorcine que ne le faisait supposer LEONARD. D'autre part, l'action favorable et rapide de cet antiseptique dans une pyélite à bacille proteus a été signalée par MAC CURRY (1925) (53).

Les expériences, que nous avons citées plus haut, de FEIRER, MEADER et LEONARD (1926) (27), sur les phénomènes de résistance acquise présentés par des souches de bacille coli et de bacille lactis aerogenes, vis-à-vis de divers antiseptiques, dont l'hexylrésorcine, ont suggéré à ces auteurs, dans le traitement des infections urinaires, une succession judicieuse des médicaments. HENLINE (1925) (31), qui obtint en clinique des résultats heureux en associant l'administration buccale d'hexylrésorcine avec un traitement local par l'acriflavine, avait proposé aussi une alternance convenable d'antiseptiques urinaires.

Il n'en est pas moins vrai que, comme pour celle de la plupart des antiseptiques urinaires, l'action de l'hexylrésorcine dans l'urine est liée à certaines conditions. Cette question a, d'ailleurs, suscité de nombreuses recherches, et, pour l'hexylrésorcine elle-même, ce sont encore les travaux de LEONARD qui apportent les données les plus intéressantes.

Le *mécanisme d'action* de l'hexylrésorcine a été éclairci, en effet, par le travail de LEONARD (18) et de ses collaborateurs, à partir de deux sortes d'observations.

Nous avons vu que LEONARD avait déduit, en comparant les résultats fournis par l'essai bactéricide de l'urine et ceux fournis par la réaction chimique de caractérisation, que la plus grande partie du médicament doit se trouver, dans l'urine, sous une forme conjuguée, inactive, tandis que la petite quantité demeurant inaltérée est seule responsable de l'activité bactéricide. Un grand excès de médicament doit être ainsi ingéré, puisqu'une forte proportion n'est pas absorbée dans l'organisme et est retrouvée, d'ailleurs, dans le contenu intestinal, et puisque la conjugaison inactive encore une partie de la proportion absorbée. Ce sont donc les petites quantités d'hexylrésorcine libre qui

assurent, dans l'organisme humain, la stérilisation de l'urine, par leur excrétion continue.

D'autre part, dans les expériences *in vitro* aussi bien que dans les essais sur le lapin, LEONARD avait constaté que le pouvoir bactéricide de l'hexylrésorcine se manifestait quelle que fût la réaction de l'urine. Chez l'homme, où l'urine est normalement acide à l'émission, l'expérimentation ne put porter sur des échantillons neutres ou alcalins.

Pour compléter ses expériences, LEONARD chercha à alcaliniser l'urine humaine par ingestion préalable de bicarbonate de sodium ; il observa alors la disparition du pouvoir bactéricide. Par des essais variés, il fut amené à vérifier que l'alcalinité elle-même de l'urine n'intervenait pas dans cette perte d'activité. En effet, nous l'avons vu pour les essais *in vitro*, l'hexylrésorcine, dissoute dans l'urine humaine, conserve son action bactéricide en urine alcaline aussi bien qu'en urine acide. De plus, le pouvoir bactéricide persiste dans l'urine excrétée après ingestion d'hexylrésorcine et titrée jusqu'à l'alcalinité par addition de potasse.

Tout d'abord, LEONARD supposa que dans l'organisme vivant, la conjugaison, qui entraîne l'inactivation de l'hexylrésorcine, était facilitée en milieu alcalin, ce qui diminuait la quantité de substance libre et active, présente dans l'urine. Mais cette première hypothèse fut bientôt abandonnée, à la suite d'expériences réalisées en collaboration avec FROBISHER (51), dans lesquelles se révélèrent les fortes propriétés tensio-actives de l'hexylrésorcine. A la suite de ces essais, les auteurs effectuèrent, avec le tensiomètre de surface de Lecomte du Noüy, des mesures de la tension superficielle de l'urine normale et de l'urine après administration d'hexylrésorcine, ou de bicarbonate de sodium, ou des deux corps simultanément. Après ingestion d'hexylrésorcine à des doses thérapeutiques, la tension superficielle de l'urine (voisine normalement de 60 dynes par cm^2) était fortement abaissée (50 dynes environ par cm^2) et le pouvoir bactéricide était d'autant plus marqué que cet abaissement était plus important. Quant au bicarbonate de sodium, son ingestion était normalement suivie, au contraire, d'une élévation de la tension superficielle de l'urine (jusqu'à 66 dynes par cm^2). Dans le cas d'ingestion simultanée des deux corps, l'action du bicarbonate de sodium, qui agit en sens inverse de l'hexylrésorcine sur la tension superficielle, pouvait être suffisante pour empêcher l'action bactéricide. LEONARD

constata aussi, au cours de ces mesures, que la seule addition d'eau était capable d'augmenter notablement la tension superficielle de l'urine et de nuire à l'action bactéricide.

Cette étude des variations de la tension superficielle, parallèlement aux variations du pouvoir bactéricide, amena LEONARD à formuler quelques règles pour l'utilisation pratique de l'hexyl-résorcine dans les infections urinaires : toutes ont pour but de maintenir dans l'urine une faible tension superficielle. Ainsi, pour assurer une élimination continue de l'hexylrésorcine, c'est-à-dire une faible tension superficielle de l'urine, LEONARD conseilla un fractionnement des doses administrées quotidiennement. Il proscrivit toute augmentation artificielle de la diurèse qui gêne doublement l'action bactéricide en diluant l'antiseptique et en provoquant une élévation de la tension superficielle de l'urine. Naturellement, pour la même raison, le bicarbonate de sodium devait être évité.

Le rôle de la tension superficielle dans l'activité des dérivés résorciniques s'est manifesté encore très clairement à propos d'un dérivé soluble de l'hexylrésorcine, son disulfonate de sodium, proposé quelques années plus tard (1932) par K. S. GREWAL (29). La forte solubilité de ce composé, qui semblait avantageuse au premier abord, coïncidait malheureusement avec une faible tensio-activité et un pouvoir bactéricide très réduit. L'étude de son élimination après administration buccale a révélé, en effet, de grandes variations selon l'organisme considéré. Ainsi chez le lapin, le dérivé est hydrolysé dans le sang et on observe un abaissement de la tension superficielle de l'urine ; au contraire, chez le chat et chez l'homme, où le dérivé est excrété inchangé, la tension superficielle de l'urine n'est pas abaissée et il n'apparaît pas de propriétés bactéricides.

Quant à l'action particulière des alcoylrésorcines sur les bactéries de l'intestin, elle ne représente qu'une partie de leur activité comme désinfectants intestinaux. En effet, l'expérimentation de ces dérivés ne s'est pas limitée à l'essai de leur action sur les bactéries. De nombreux auteurs ont étudié leur action sur les parasites de l'intestin de l'homme et des animaux ; quelques auteurs ont même essayé leur action vis-à-vis de moisissures, parasites des plantes supérieures. Nous allons passer en revue ces travaux et les applications qui en ont découlé.

B. — Action sur divers organismes autres que les bactéries.

1^o ACTION SUR LES PARASITES DE L'INTESTIN.

L'action des alcoylrésorcines sur la flore bactérienne de l'intestin amena naturellement les auteurs à examiner leur action d'abord sur les protozoaires, puis sur les vers, nématodes et costodes, parasites de l'intestin.

a) Action sur les Protozoaires.

LEONARD et FEIRER (1927) (50), après avoir observé l'activité *in vitro* d'une solution glycéro-aqueuse d'hexylrésorcine à 1 p. 1.000 sur de nombreuses bactéries appartenant à des groupes très différents, recherchèrent l'action de cette même solution sur divers protozoaires, parasites de l'homme et des animaux : *Entamaeba coli*, *Iodamaeba*, des spirochètes tels que *Leptospira icterohemorrhagiae* et quelques flagellés, *Trypanosoma lewisi* et *Trypanosoma hominis*. Comme pour les bactéries, ces auteurs constatèrent la mort de ces organismes en moins de 15 secondes de contact avec la solution antiseptique.

In vivo, RATCLIFF (1929) (60) étudia l'effet de l'ingestion de quatre alcoylrésorcines : butyl-, hexyl-, heptyl- et octylrésorcine, sur le contenu intestinal du rat. Nous avons vu, précédemment, qu'il constata chez des rats normaux un changement qualitatif important dans la flore intestinale, par passage des dérivés ingérés dans les matières fécales. Chez des rats infectés avec *Trichomonas muris*, *Trichomonas parva*, et *Entamaeba muris*, RATCLIFF observa dans les selles une diminution frappante du nombre de ces organismes après ingestion de butylrésorcine ou d'hexylrésorcine, et leur disparition totale après ingestion d'heptyl- ou d'octylrésorcine.

Dans des expériences semblables, effectuées chez de jeunes poulets infectés avec *Trichomonas gallinarum* et *Trichomonas hominis*, l'heptylrésorcine se montra encore plus active que chez le rat.

A la suite de ces essais, RATCLIFF proposa l'emploi de l'heptyl- ou de l'octylrésorcine pour le traitement d'infections intestinales à protozoaires chez l'homme et chez d'autres animaux.

Dès lors, l'expérimentation de l'heptylrésorcine fut principale-

ment poursuivie. DAVID et LEAKE (1930) (20) traitèrent avec succès des cobayes infestés naturellement par *Balantidium coli* en leur administrant d'assez fortes doses d'heptylrésorcine (75 à 100 mgr. par kgr. à 2 jours d'intervalle). Ce même dérivé fut expérimenté par FAUST (1930) (21), d'abord chez divers animaux (chiens, singes, rats), puis chez des enfants de 2 à 9 ans, et se montra très actif contre divers protozoaires parasites de l'homme et des mammifères : plusieurs *Entamaeba*, dont *Entamaeba coli*, *Iodamaeba*, *Giardia*. Enfin, FAUST réalisa chez l'homme des traitements contre *Entamaeba histolytica* et il conclut que l'heptylrésorcine pourrait prendre place dans la thérapeutique amibienne chez l'enfant et chez l'adulte. De bons résultats ont été rapportés par MACKIE (1931) (54), qui utilisait l'heptylrésorcine dans l'huile d'olive, et surtout par THONNARD-NEUMANN (1931) (76) contre *Entamaeba histolytica*, *Giardia*, *Lambliia* et *Trichomonas hominis*.

Il ne semble pas, cependant, que l'heptylrésorcine ait été très largement utilisée chez l'homme dans ces infections.

b) Action sur les Nématodes et les Cestodes.

De nombreux auteurs ont cherché à déterminer, tant *in vitro* qu'*in vivo*, l'action anthelminthique des alcoylrésorcines et surtout de l'hexylrésorcine.

Contre des formes libres de *Strongyloïdes*, FAUST (1931) (25) compara l'action *in vitro* de l'hexylrésorcine et de divers colorants antiseptiques dont le crystal violet ; il constata que l'action mortelle de l'hexylrésorcine était supérieure à celle des substances colorantes essayées. La même année (1931), BROWN (13) observa que des solutions diluées de cet antiseptique tuaient très rapidement des œufs d'*Ascaris* et de *Toenia* et des larves de *Necator* (il attribua cette action à la propriété que possède l'hexylrésorcine de précipiter les protéines, et en particulier la couche albumineuse de ces organismes).

Sur des larves d'ankylostomes et de strongyloïdes, CLAPHAM (1932) (16) nota l'action rapidement mortelle de solutions d'hexylrésorcine à 1 p. 1.000. Cependant, AZIM (1933) (2), d'une part, BIGGAM et CHALMOUNGH (1932) (8) d'autre part, ont rapporté que l'hexylrésorcine, très active contre les œufs de *Necator americanus*, l'était beaucoup moins contre ceux d'*Ankylostomum*

duodenale ; l'action était très nette contre *Trichuris* (trichocéphale).

Dans une étude systématique des anthelminthiques (1935), LAMSON, BROWN et WARD (45), qui avaient antérieurement (1930-1931) observé l'efficacité de l'hexylrésorcine d'abord contre l'*ascaris* du porc, puis contre l'*ascaris* de l'homme, étudièrent l'action, *in vitro*, sur l'*ascaris* du porc, de la série des alcoylrésorcines à chaîne normale. Ils constatèrent que l'activité commence avec l'amylrésorcine, est maxima avec l'hexylrésorcine et l'heptylrésorcine, décroît avec l'octylrésorcine et devient nulle avec la dodécylrésorcine. Au cours d'essais sur l'homme, l'hexylrésorcine se montra plus efficace que l'heptylrésorcine contre les *ascaris* et les *toenias* ; ainsi, LAMSON et ses collaborateurs rapportèrent que l'absorption buccale d'hexylrésorcine aux doses de 0,10 gr. par année d'âge chez l'enfant, et 1 gr. chez l'adulte, assurait l'élimination de 90 à 100 % des *ascaris*.

TUBANGHI, BASACA et PASCA (1935) (78) ont confirmé l'action de l'hexylrésorcine contre les *ascaris* et les *ankylostomes* : contre ces derniers parasites, il convenait, d'après eux, d'associer le composé administré à un purgatif et de préférence à la phénolphtaléine. De bons résultats furent rapportés par les auteurs précédents, ainsi que par BROWN (13), dans des infestations par les oxyures. Par contre, sur les *toenias*, l'action de l'hexylrésorcine est beaucoup moins nette ; il semble que peu d'essais aient été effectués, mais BROWN (13) d'une part, MAPLESTONE et MUKERJI (1932) (56) d'autre part, ont rapporté tout au plus 50 % de réussites pour les quelques cas traités.

Il n'en reste pas moins vrai que l'action anthelminthique de l'hexylrésorcine et même de l'heptylrésorcine est tout à fait importante : elle est incontestable contre les *ascaris*, les oxyures et les *ankylostomes*, mais elle est douteuse contre les *toenias*.

LAMSON et ses collaborateurs, BROWN, ROBBINS et WARD (1933) (44), ont préconisé surtout l'emploi de l'hexylrésorcine, l'heptylrésorcine étant un peu moins active chez l'homme. Ils ont observé que l'hexylrésorcine perdait une grande partie de son activité anthelminthique en solution huileuse et devait être absorbée à l'état de poudre cristalline. Nous verrons, dans le chapitre traitant de la toxicité de ces composés, qu'une action irritante passagère sur la muqueuse buccale s'est manifestée chez quelques individus qui avaient croqué des pilules d'hexylrésorcine. LAMSON,

tout en constatant que le pouvoir irritant intervient dans l'action anthelmintique, a jugé préférable d'adopter l'introduction de l'hexylrésorcine dans des capsules de gélatine. Sous cette forme, l'hexylrésorcine semble avoir été très utilisée aux Etats-Unis.

2^o ACTION SUR LES PARASITES DES PLANTES.

Notons, pour terminer cette revue du domaine d'activité des dérivés résorciniques, que HOUBEN et WOLLENWEBER (1929) (33) ont recherché l'action de deux d'entre eux sur divers champignons parasites des plantes. Ils ont observé, avec la phénylrésorcine et surtout l'hexylrésorcine, une action empêchante très nette sur la croissance de ces organismes, à d'assez grandes dilutions. A la suite de ces essais, WINDISCH (1929) (81) a proposé l'utilisation de ces antiseptiques pour la désinfection des granges et dans certaines industries telles que la brasserie.

Rappelons qu'aux Etats-Unis, des essais ont été faits, en particulier par POE et FEHLMANN (59), pour utiliser l'hexylrésorcine dans la conservation de produits alimentaires.

Après avoir rapporté les travaux effectués sur les dérivés de la résorcine, et principalement sur l'hexylrésorcine, qui ont établi la valeur antiseptique incontestable de quelques-uns de ces composés, nous allons exposer nos propres essais.

ESSAIS PERSONNELS

1. — ÉTUDE DE L'ACTION ANTISEPTIQUE *IN VITRO*

Nous avons vu que les auteurs américains estimèrent d'abord la valeur antiseptique des dérivés de la résorcine par la mesure du coefficient phénol. LEONARD (17) effectua, de plus, pour ces mêmes corps, une détermination du pouvoir bactéricide *in vitro*, en présence d'urine humaine, vis-à-vis du colibacille et du staphylocoque blanc.

Nous avons remplacé la mesure du coefficient phénol par la détermination du pouvoir antigénétique et du pouvoir antibiotique,

suivant la technique mise au point dans le laboratoire de M. le Pr. J. RÉGNIER, et que nous utilisons habituellement pour l'essai de l'activité antimicrobienne. Cette technique permet en effet de s'assurer de la validité des résultats par une comparaison du pouvoir antigénétique et du pouvoir antibiotique. Afin de nous rapprocher autant que possible des essais *in vivo*, nous avons complété cet essai *in vitro* par la *détermination du pouvoir bactéricide dans l'urine humaine*.

Ces essais ont porté sur deux bactéries les plus fréquemment rencontrées dans les infections urinaires : le *colibacille* et le *staphylocoque doré*.

Nous décrirons d'abord les techniques employées et nous exposerons les résultats obtenus.

A. — Techniques utilisées.

1^o DÉTERMINATION DU POUVOIR ANTIGÉNÉTIQUE

ET DU POUVOIR ANTIBIOTIQUE

VIS-A-VIS DU COLIBACILLE ET DU STAPHYLOCOQUE DORÉ.

a) Avant d'exposer les techniques de ces mesures, rappelons la signification des termes « *pouvoir antigénétique* » et « *pouvoir antibiotique* », tels qu'ils ont été définis par J. RÉGNIER et S. LAMBIN (61).

α) Le *pouvoir antigénétique* d'une substance, vis-à-vis d'un microbe donné, est la faculté que possède cette substance de suspendre temporairement la vie de ce germe, ou de s'opposer à son développement, dans un milieu où se trouvent réalisées les conditions optima.

Pratiquement, ce pouvoir antigénétique d'une substance est représenté par la « *dose antigénétique* » ou quantité de cette substance qu'il suffit d'ajouter à un litre de bouillon de culture pour y empêcher le développement des germes qui y sont ensemencés à raison de 10 millions par centimètre cube.

Le pouvoir antigénétique d'une substance est donc d'autant plus fort que la dose antigénétique de cette substance est plus petite.

β) Le *pouvoir antibiotique* ou bactéricide d'une substance, vis-à-vis d'un microbe donné, est la faculté que possède cette sub-

stance de détruire définitivement ce germe, dans un milieu donné, de telle sorte qu'il ne puisse plus se développer ultérieurement, dans un milieu où se trouvent réalisées les conditions optima.

Ce pouvoir antibiotique d'une substance est représenté par la « dose antibiotique », c'est-à-dire par la quantité de cette substance qu'il suffit d'ajouter à un litre d'un milieu quelconque pour tuer, en 15 minutes, une quantité connue de germes (fixée à 500 millions par cm^3).

Le pouvoir antibiotique d'une substance est donc d'autant plus grand que la dose antibiotique de cette substance est plus petite.

Nous n'entrerons pas dans la description détaillée de cette méthode, qui a été publiée ailleurs (*) et dont la mise au point minutieuse est exposée dans la thèse de M^{lle} S. LAMBIN (43). Nous donnerons seulement les opérations essentielles à la compréhension de cet exposé.

b) *Techniques générales communes aux deux déterminations.*

Les deux essais nécessitent un certain nombre de manipulations préalables qui leur sont communes :

- la préparation des solutions désinfectantes,
- la préparation des germes et celle des milieux de culture et, pour l'essai du pouvoir antibiotique, de subculture,
- la préparation des suspensions microbiennes et la numération des germes qu'elles contiennent, afin de permettre la réalisation des suspensions titrées.

Nous résumerons aussi brièvement que possible ces diverses manipulations.

α) Les *solutions antiseptiques* sont préparées au moment de l'essai par pesée exacte de la substance à essayer et dissolution dans l'eau distillée. Comme nous avons affaire à des corps peu solubles, la dissolution était le plus souvent effectuée au mortier ou même au bain-marie.

β) Les *germes* intervenant dans nos essais ont été le colibacille et le staphylocoque doré.

(*) J. RÉGNIER et S. LAMBIN (61).

Les milieux de culture et de subculture utilisés ont été :

le bouillon peptoné salé simple,
le bouillon peptoné salé à double concentration, servant à
l'essai du pouvoir antibiotique,
et le bouillon gélosé à 20 p. 1.000.

Ces milieux étaient préparées selon les formules habituelles.

Les souches étaient conservées à la glacière, en bouillon gélatiné à 10 p. 1.000 ; pour les essais, deux repiquages successifs, à partir de ce bouillon-souche, étaient effectués sur bouillon gélosé.

γ) La *suspension microbienne* est préparée à partir d'une culture à 37°, âgée de 24 heures, sur gélose inclinée. L'émulsion est effectuée dans de l'eau distillée stérile, avec les précautions nécessaires pour le prélèvement des germes, l'émulsion et l'agitation.

La *numération des germes* de la suspension est effectuée par une méthode microscopique indirecte ou comparative. Cette méthode, dérivée de la méthode de WRIGHT, utilise comme élément de comparaison des cellules de levure des boulangers. Une suspension de levures dans l'eau distillée stérile est dénombrée, après dilution convenable, à l'hématimètre de Malassez. Cette suspension titrée, additionnée de chloroforme, se conserve bien à la glacière pendant 10 à 15 jours. Pour la numération comparative de l'émulsion bactérienne, on mélange un volume connu de suspension titrée de levures avec un volume connu de suspension microbienne. Une goutte du mélange, après agitation, est étalée sur plusieurs lames, fixée et colorée : on compte au microscope, sur chaque lame, dans un grand nombre de champs, la proportion relative des deux éléments.

Le titre X de l'émulsion bactérienne est alors fourni facilement par calcul, d'après la formule suivante :

$$X = \frac{\text{volume de levures}}{\text{volume de bactéries}} \times \frac{\text{nombre de bactéries}}{\text{nombre de levures}} \times k$$

X représentant le titre de la suspension microbienne, et k celui de la suspension de levures, en millions par cm^3 .

On calcule alors la quantité de suspension microbienne qu'il convient d'utiliser pour avoir la concentration en germes nécessaire aux essais.

c) Détermination de la dose antigénétique en bouillon.

On dispose une série de 10 tubes contenant chacun 2 cm^3 5 de bouillon de culture à double concentration. On introduit dans chacun d'eux une quantité d'émulsion microbienne correspondant à 5 millions de germes, puis on y ajoute des quantités croissantes de la solution antiseptique à l'essai ; on complète enfin, dans chaque tube, avec de l'eau distillée stérile, au volume constant de 5 cm^3 .

Les tubes, contenant finalement chacun 10 millions de germes par cm^3 de bouillon et des quantités croissantes de la substance antiseptique, sont agités soigneusement, capuchonnés au caoutchouc (pour éviter le départ éventuel de produits volatils), et abandonnés pendant 15 jours à la température du laboratoire pour permettre à l'action antigénétique de s'exercer.

Les tubes sont ensuite portés, pendant 4 jours, à l'étuve à 37° , pour permettre aux germes survivants de se développer nettement.

Un tube de bouillon additionné de germes, mais sans antiseptique, sert de témoin et permet de vérifier la vitalité des germes en expérience.

Vingt jours après la mise en contact de l'antiseptique et des germes, la lecture des résultats est effectuée : on note la quantité de substance antiseptique contenue dans le dernier tube de la série qui a cultivé, la quantité contenue dans le tube suivant ou premier tube resté stérile ; la moyenne des deux chiffres, rapportée au litre (c'est-à-dire multipliée par 200, puisque l'essai a porté sur 5 cm^3 de milieu), est considérée comme la dose antigénétique de la substance.

Il est évident que de nombreux essais préliminaires ont été effectués pour déterminer l'échelle des doses actives des substances essayées. Des essais ultérieurs ont été réalisés, en resserrant de plus en plus les doses en expérience, jusqu'à utilisation de quantités suffisamment rapprochées pour donner un résultat précis.

d) Détermination de la dose antibiotique.

Le pouvoir antibiotique peut être déterminé dans différents milieux : eau distillée, eau physiologique, milieu albumineux. Nous avons opéré dans l'eau distillée.

La suspension microbienne du germe utilisé, préparée en eau distillée, ayant été titrée comme nous l'avons indiqué précédemment, est diluée de façon à contenir par centimètre cube, 5 milliards de germes : $0,5\text{ cm}^3$ de cette émulsion contiennent 2.500 millions de germes qui, introduits dans les 5 cm^3 du milieu d'essai, assurent une concentration de 500 millions de germes par centimètre cube.

La suspension microbienne et la solution de la substance à essayer étant prêtes, on dispose une série de 10 tubes stériles ; on y introduit à l'aide de pipettes graduées stériles, des quantités préalablement calculées et croissantes de la solution désinfectante et suffisamment d'eau distillée stérile pour avoir, dans chaque tube, après addition de la suspension microbienne, un volume total de 5 cm^3 . Les tubes ayant été agités soigneusement, on ajoute, dans chacun, $0,5\text{ cm}^3$ de la suspension microbienne (soit 2.500 millions de germes). On mélange à nouveau.

Les tubes contenant chacun 500 millions de germes par centimètre cube d'eau distillée et des quantités croissantes de la substance antiseptique, sont alors laissés au repos, à la température du laboratoire, durant 15 minutes, pour permettre à l'action antibiotique de s'exercer.

Quinze minutes exactement après l'introduction des germes dans le premier tube, on prélève successivement dans chaque tube, $1/10^{\text{e}}$ de cm^3 du mélange, que l'on ensemence dans 5 cm^3 de bouillon dit de « subculture ».

Chaque tube de subculture reçoit donc ainsi $1/50$ du mélange (germes + désinfectant) soit 50 millions de germes pour 5 cm^3 , ou 10 millions par centimètre cube, c'est-à-dire une concentration identique à celle adoptée pour l'essai antigénétique de la substance.

Les tubes de bouillon de subculture sont placés à l'étuve à 37° , afin que les germes non détruits par leur contact de 15 minutes avec la substance désinfectante puissent à nouveau se développer dans le milieu neuf. Le séjour à l'étuve est prolongé jusqu'à ce que le nombre des subcultures positives reste constant, ce qui est généralement réalisé en 3 jours au maximum.

La lecture des résultats est alors effectuée.

On note la quantité de substance antiseptique contenue dans le dernier tube de la série dont la subculture est positive et la quantité contenue dans le tube suivant ou premier tube dont la

subculture est négative. La moyenne des deux chiffres, rapportée au litre, est considérée comme la « dose antibiotique » (ou bactéricide) de la substance, en eau distillée, vis-à-vis du germe à l'essai.

De même que pour les essais du pouvoir antigénétique, des essais préliminaires nombreux ont dû être effectués avant d'arriver aux essais définitifs dans lesquels des doses suffisamment rapprochées furent mises en expérience.

e) *Schéma d'un essai antigénétique et antibiotique.*

Nous prendrons comme type d'expérience un essai définitif du pouvoir antigénétique et du pouvoir antibiotique de l'hexyl-résorcine vis-à-vis du staphylocoque doré, cet essai comportant la *numération des germes*, la *détermination de la dose antigénétique* et la *détermination de la dose antibiotique*.

α) *Numération des germes.* — La suspension de cellules-levures utilisée titrait, par numération à l'hématimètre de Malassez, 240 millions de cellules-levures par centimètre cube.

A 2 cm³ de cette suspension a été ajoutée 0,1 cm³ d'émulsion bactérienne. La numération comparative du mélange, effectuée au microscope, sur plusieurs lames et après coloration, a donné 613 bactéries pour 583 cellules-levures. Le titre de l'émulsion bactérienne était donc le suivant :

$$X = \frac{2}{0,1} \times \frac{613}{583} \times 240 = 5.021 \text{ millions, soit sensiblement } 5 \text{ milliards par cm}^3.$$

Pour l'*essai antibiotique*, nécessitant l'introduction de 2.500 millions de germes (500 millions par cm³), nous avons prélevé 0,50 cm³ de la suspension bactérienne.

Pour l'*essai antigénétique*, nécessitant l'introduction de 50 millions de germes (10 millions par cm³) nous avons fait une dilution au 1/10 et prélevé 0,10 cm³ de cette dilution.

β) *Essai antigénétique en bouillon.* — Les différents éléments de l'essai ont été répartis de la façon suivante, dans 10 tubes stériles (les chiffres exprimant des centimètres cubes) :

2° DÉTERMINATION DU POUVOIR ANTIBIOTIQUE *in vitro*,
EN URINE HUMAINE.

L'essai du pouvoir bactéricide en urine humaine, tel que l'a préconisé LEONARD (47), consiste à déterminer la dilution maxima de chaque substance essayée, capable de tuer les germes dans ce milieu.

a) *Technique.*

Au moment de l'essai est préparée une solution-mère de la substance essayée, dans de l'urine normale, récemment émise. On prépare, à partir de cette solution-mère, par addition d'urine, diverses dilutions de taux connu.

Des fractions de 1 cm³ de chacune de ces dilutions antiseptiques (de moins en moins concentrées) sont introduites dans une série de tubes à essai stériles ; on ajoute dans chacun une anse de platine (de 3 millimètres de diamètre) d'une culture en bouillon, âgée de 24 heures, du germe en expérience (colibacille ou staphylocoque doré). Le mélange est agité soigneusement, puis placé à l'étuve à 37° ; après un contact d'une heure, une anse est prélevée dans chaque tube et repiquée sur gélose inclinée. Les tubes sont à nouveau remis à l'étuve et de nouveaux prélèvements sont effectués après 24 heures d'incubation.

Afin de vérifier que l'urine utilisée est, par elle-même, dépourvue de propriétés bactéricides propres, un essai témoin est effectué en ajoutant à 1 cm³ de cette urine une anse de culture en bouillon des germes en expérience. Des cultures sont effectuées, dans ce mélange, dans les mêmes conditions que pour les dilutions antiseptiques.

Ces essais ont été réalisés en *urine neutre* (pH 7)

en *urine acide* (pH 6 — 6,2)

en *urine alcaline* (pH 8 — 8,2).

L'urine acide était obtenue par addition d'acide phosphorique dilué à de l'urine neutre, et l'urine alcaline par addition de soude normale.

Pour la lecture des résultats, on note les dilutions maxima de la solution antiseptique (ou concentrations minima) ayant réussi à tuer les germes, c'est-à-dire ayant donné des subcultures négatives après 1 heure et après 24 heures de contact.

Les dilutions reconnues bactéricides sont donc d'autant plus grandes que l'activité bactéricide de la subculture est plus marquée.

Des essais préliminaires permettent de repérer la zone des dilutions actives, avant d'effectuer un essai plus précis.

Nous reproduisons ci-dessous le résultat d'un essai définitif du pouvoir antibiotique, dans l'urine humaine, de l'hexylrésorcine à l'égard du colibacille.

b) *Schéma d'un essai. — Détermination de la dilution maxima d'hexylrésorcine détruisant le colibacille en urine humaine.*

L'urine utilisée présentait un pH égal à 7.

A partir d'une solution-mère d'hexylrésorcine à 1/2.000, des dilutions croissantes étaient préparées, dans l'urine, jusqu'à 1/100.000. Dans une série de tubes stériles était placé 1 cm³ de chaque dilution, et, dans un tube témoin, 1 cm³ de l'urine pure. Une anse d'une culture en bouillon de colibacille, âgée de 24 heures, était introduite dans chaque tube.

Les subcultures effectuées pour chaque tube, 1 heure et 24 heures après la mise en contact avec les germes, ont donné les résultats suivants :

Solution d'hexylrésorcine dans l'urine :

	1/2000	1/4000	1/8000	1/12000	1/16000	1/32000	1/64000	1/100000	Témoin urine
Après 1 h....	0	0	0	0	+	+	+	+	+

Résultat des subcultures :

Après 24 h...	0	0	0	0	0	+	+	+	+
---------------	---	---	---	---	---	---	---	---	---

+ = subcultures positives

0 = subcultures négatives

Ainsi, la dilution d'hexylrésorcine au 1/12.000 a réussi à tuer le colibacille en 1 heure ; la dilution au 1/16.000 y est parvenue en 24 heures.

B. — Résultats des essais *in vitro*.

Comme nous l'avons dit à propos de la description des techniques utilisées, chaque chiffre exprimé dans nos résultats repré-

sente la moyenne des chiffres obtenus au cours de deux ou trois essais définitifs, après un ou plusieurs essais préliminaires.

Nous n'avons pas pu effectuer l'essai *in vitro* de la cyclopentyl-résorcine, dérivé presque insoluble.

D'ailleurs, pour plusieurs composés, les doses antigénétique et antibiotique, ainsi que les dilutions maxima bactéricides dans l'urine, n'ont pu être déterminées exactement, la solubilité de ces composés n'étant pas assez grande pour mettre en évidence leur activité. Dans ce cas, nous avons indiqué, précédée du signe ∞ la dose mise en expérience, et précédée du signe ∞ la plus faible dilution essayée.

1^o DÉTERMINATION DU POUVOIR ANTIGÉNÉTIQUE ET DU POUVOIR ANTIBIOTIQUE.

a) Dose antigénétique en bouillon.

Ainsi que nous l'avons définie au début de ce chapitre, la dose antigénétique d'une substance est la quantité de cette substance qu'il faut ajouter à un litre de bouillon de culture pour y empêcher le développement des germes qui y sont ensemencés à raison de 10 millions par centimètre cube.

Les doses antigénétiques en bouillon, vis-à-vis du colibacille et du staphylocoque doré, pour tous les corps étudiés, sont les suivantes :

	Vis-à-vis du colibacille	Vis-à-vis du staphylocoque doré
Hexylrésorcine	0,15	0,038
Heptylrésorcine.....	> 0,25	0,017
Ethylphénylrésorcine	> 0,25	0,10
Diéthyléthylrésorcine	> 0,35	0,067
Cyclohexylrésorcine	0,45	0,11
Méthylheptylrésorcine.....	> 5 gr.	0,35

Nous constatons que les corps de la série résorcinique se classent sensiblement dans le même ordre, en ce qui concerne leur activité sur le staphylocoque et le colibacille. Il est à remarquer, cependant, que le staphylocoque est plus sensible que le colibacille, c'est-à-dire que les doses antigénétiques nécessaires pour empêcher son développement sont plus petites.

L'ordre des activités décroissantes est le suivant :

1^o Vis-à-vis du *colibacille* :

hexylrésorcine > heptylrésorcine = éthylphénylrésorcine > diéthyléthylrésorcine > cyclohexylrésorcine > méthylheptylrésorcine.

2^o Vis-à-vis du *staphylocoque doré* :

heptylrésorcine > hexylrésorcine > diéthyléthylrésorcine > éthylphénylrésorcine > cyclohexylrésorcine > méthylheptylrésorcine.

b) *Dose antibiotique en eau distillée.*

Nous avons défini « dose antibiotique » d'une substance, la quantité de cette substance qu'il suffit d'ajouter à un litre d'un milieu quelconque pour tuer, en 15 minutes, une quantité de germes, fixée à 500 millions par centimètre cube.

Les « doses antibiotiques » obtenues, vis-à-vis du colibacille et vis-à-vis du staphylocoque doré, en eau distillée, sont données dans le tableau suivant :

	Germes en expérience	
	Colibacille	Staphylocoque doré
Hexylrésorcine.....	0,28	0,03
Heptylrésorcine.....	0,20	0,04
Ethylphénylrésorcine.....	0,35	0,30
Diéthyléthylrésorcine	> 0,50	0,42
Méthylheptylrésorcine	7 gr.	1,25 gr.
Cyclohexylrésorcine	0,80	0,28

Nous pouvons faire, à propos du pouvoir antibiotique des dérivés étudiés, les mêmes remarques qu'à propos du pouvoir antigénétique : les composés étudiés se classent à peu près dans le même ordre, en ce qui concerne leur activité sur le colibacille et sur le staphylocoque doré. Ce dernier germe est plus sensible que le colibacille, c'est-à-dire que les doses antibiotiques sont plus petites.

L'ordre des activités décroissantes est le suivant :

1^o Vis-à-vis du *colibacille* :

heptylrésorcine > hexylrésorcine > éthylphénylrésorcine > diéthyléthylrésorcine > cyclohexylrésorcine > méthylheptylrésorcine.

2° Vis-à-vis du *staphylocoque doré* :

heptylrésorcine > hexylrésorcine > éthylphénylrésorcine > cyclohexylrésorcine > diéthyléthylrésorcine > méthylheptylrésorcine.

2° DÉTERMINATION DU POUVOIR ANTIBIOTIQUE
EN URINE HUMAINE.

Nous donnons ci-dessous les tableaux, pour les divers corps examinés, des concentrations minima ou des dilutions maxima capables de tuer le colibacille et la staphylocoque doré, dans l'urine humaine, neutre, acide ou alcaline, après 1 heure et après 24 heures de contact des germes et de la solution antiseptique.

a) *Dilutions maxima détruisant le colibacille en urine humaine.*

Dérivés étudiés	Temps d'action	Essais en urine acide pH = 6-6,2	Essais en urine neutre pH = 7-7,2	Essais en urine alcaline pH = 8-8,2
Hexylrésorcine	1 heure	1/6000	1/12000	1/12000
	24 heures	1/6000	1/16000	1/12000
Heptylrésorcine.....	1 heure	1/6000	1/12000	1/12000
	24 heures	1/6000	1/12000	1/12000
Cyclohexylrésorcine.....	1 heure	1/2000	1/2000	1/2000
	24 heures	1/2000	1/2000	1/2000
Diéthyléthylrésorcine....	1 heure	1/3000	1/3000	1/3000
	24 heures	1/6000	1/3000	1/3000
Méthylheptylrésorcine ...	1 heure	1/150	1/300	1/600
	24 heures	1/300	1/300	1/600
Éthylphénylrésorcine	1 heure	1/2000	1/3250	1/2000
	24 heures	1/2000	1/3250	1/3000

b) *Dilutions maxima détruisant le staphylocoque doré en urine humaine.*

Dérivés étudiés	Temps d'action	Essais en urine acide pH = 6-6,2	Essais en urine neutre pH = 7-7,2	Essais en urine alcaline pH = 8-8,2
Hexylrésorcine	1 heure	1/20000	1/20000	1/23000
	24 heures	1/20000	1/20000	1/23000
Heptylrésorcine.....	1 heure	1/6000	1/6000	1/12000
	24 heures	1/6000	1/16000	1/12000
Diéthyléthylrésorcine....	1 heure	1/60000	1/20000	1/14000
	24 heures	1/24000	1/24000	1/14000
Cyclohexylrésorcine.....	1 heure	1/6000	1/8000	1/12000
	24 heures	1/6000	1/12000	1/20000
Éthylphénylrésorcine	1 heure	1/3250	1/5000	1/3250
	24 heures	1/3250	1/8000	1/3250
Méthylheptylrésorcine ...	1 heure	1/900	1/600	1/1400
	24 heures	1/1400	1/600	1/1400

La lecture de ces tableaux nous permet de tirer les conclusions suivantes, quant à l'activité comparée de ces dérivés dans les conditions des essais.

1° vis-à-vis du *colibacille* :

L'ordre des activités décroissantes des *dérivés résorciniques* est à peu près le même, quelle que soit la réaction de l'urine.

L'hexylrésorcine et l'heptylrésorcine, les deux dérivés les plus actifs, présentent la même valeur. La diéthyléthylrésorcine vient ensuite, avec une activité très légèrement supérieure ou égale à celle de la cyclohexylrésorcine et de l'éthylphénylrésorcine, composés sensiblement équivalents. La méthylheptylrésorcine est nettement moins active que les dérivés résorciniques précédents.

2° vis-à-vis du *staphylocoque doré* :

Pour les dérivés résorciniques, quelques légères variations ont été observées selon la réaction de l'urine.

Ainsi, en urine acide ou neutre, la diéthyléthylrésorcine se place en tête des corps étudiés, devant l'hexylrésorcine et l'heptylrésorcine, tandis qu'en urine alcaline, c'est l'hexylrésorcine, qui présente une activité un peu plus marquée. La cyclohexylrésorcine est légèrement plus active que l'éthylphénylrésorcine et la méthylheptylrésorcine représente le dérivé le moins actif.

D'une façon générale, nous retrouvons dans cet essai du pouvoir antibiotique en urine humaine, comme dans la mesure du pouvoir antigénétique et du pouvoir antibiotique, la sensibilité plus grande du staphylocoque. Au moins pour les dérivés résorciniques, la destruction du colibacille nécessite des concentrations d'antiseptique deux à trois fois plus fortes que celle du staphylocoque doré.

L'influence de la réaction de l'urine est peu sensible. Il faut remarquer, comme nous l'avons dit à propos de la description de la technique, que cette réaction, au cours des essais, variait dans des limites assez étroites : pH 6 à 6,2 pour l'urine acide, pH 7 à 7,2 pour l'urine neutre, pH 8 à 8,2 pour l'urine alcaline. Tout au plus pouvons-nous noter que l'hexylrésorcine et l'heptylrésorcine, à l'égard du colibacille, semblent un peu plus actives en urine alcaline qu'en urine acide, ce qui concorde avec les résultats de LEONARD (47).

C. — Conclusions des essais *in vitro*.

Si nous considérons l'ensemble des essais *in vitro*, nous constatons que les résultats obtenus dans les mesures du pouvoir antigénétique en bouillon, du pouvoir antibiotique en eau distillée et du pouvoir antibiotique en urine humaine, sont tout à fait concordants.

Les dérivés résorciniques se montrent des antiseptiques relativement très actifs ; les composés que nous avons examinés présentent cependant des différences assez notables dans leur activité. Ainsi, pour résumer les résultats que nous venons d'exposer, nous pouvons les classer en 3 groupes :

a) le groupe de l'*hexylrésorcine* et de l'*heptylrésorcine* réunissant les deux dérivés les plus actifs et sensiblement équivalents.

b) le groupe de la *diéthyléthylrésorcine*, de la *cyclohexylrésorcine* et de l'*éthylphénylrésorcine*, composés un peu moins actifs, dans l'ensemble, que les précédents.

c) enfin, la *méthylheptylrésorcine* qui est, de beaucoup, le dérivé le moins intéressant.

Nous n'avons pas pu effectuer l'essai *in vitro* de la *cyclopentylrésorcine*, en raison de sa trop faible solubilité.

II. — ÉTUDE DE L'ACTION ANTISEPTIQUE *IN VIVO*

L'étude de l'action antiseptique *in vivo* a consisté en la détermination du pouvoir bactéricide acquis par l'urine du lapin après administration des substances essayées par voie buccale.

Les essais ont porté sur toutes les substances que nous avons présentées au début de cette première partie, c'est-à-dire :

1° les *dérivés résorciniques simples* : hexylrésorcine, heptylrésorcine, diéthyléthylrésorcine, cyclopentylrésorcine, cyclohexylrésorcine et éthylphénylrésorcine, l'hexylrésorcine étant prise comme terme de comparaison.

2° deux *dérivés résorciniques diacétylés* : diacétylheptylrésorcine et diacétylcyclohexylrésorcine, dont le pouvoir antiseptique *in vitro* n'a pas été mesuré, et qui ont été étudiés *in vivo* comparativement aux dérivés correspondants non acétylés et à l'hexylrésorcine elle-même.

L'action antiseptique *in vivo* de ces composés, par passage

dans l'urine du lapin, a été déterminée vis-à-vis du *colibacille* et du *staphylocoque doré* pour toutes les substances et vis-à-vis de l'*entérocoque*, pour quelques-unes seulement.

Après la description de la technique utilisée, nous exposerons les résultats obtenus.

A. — Technique.

Nous avons repris en la modifiant, la technique utilisée par LEONARD (1924) (47) au cours de ses essais.

Cette technique consiste essentiellement à recueillir, par sondage aseptique, l'urine de lapins auxquels ont préalablement été administrées, par voie buccale, des quantités variables de la substance étudiée et à rechercher le pouvoir bactéricide, vis-à-vis de germes donnés, de cette urine prélevée à divers intervalles de temps après l'absorption de l'antiseptique.

Les *lapins* servant à effectuer ces essais étaient des lapins mâles, parfaitement sains et vigoureux, pesant de 2 kgr. 500 à 3 kgr. Ils étaient isolés, chacun dans une cage, et nourris de façon déterminée, plusieurs jours avant l'essai, comme il sera dit plus loin.

Les *substances* à essayer étaient pesées au moment de l'essai et mises en solution dans l'huile d'olive, en raison de leur solubilité assez facile dans ce solvant. On calculait, selon le poids de l'animal en expérience, la quantité de solution à lui administrer pour lui faire absorber une quantité donnée du produit par kilogramme d'animal.

Les germes utilisés dans les essais, le *colibacille*, le *staphylocoque doré* et l'*entérocoque*, avaient été isolés de produits pathologiques et, pour chaque essai, provenaient de cultures, en bouillon de viande peptoné salé, âgées de 24 heures et cultivées à 37°.

1^o MARCHE GÉNÉRALE DE L'ESSAI.

Chaque essai comprenait les opérations suivantes :

- a) un sondage préliminaire,
- b) l'administration de la substance antiseptique,
- c) les sondages ultérieurs à l'administration du médicament, et la recherche du pouvoir bactéricide des urines recueillies.

a) *Sondage préliminaire.*

Le lapin était pesé, puis immobilisé sur le dos à l'aide d'un appareil à contention. La totalité de l'urine contenue dans la vessie était prélevée par cathétérisme à l'aide d'une sonde de caoutchouc fine, stérile et lubrifiée à l'huile de vaseline stérile. On s'assurait que l'urine ainsi recueillie n'était douée, par elle-même, d'aucun pouvoir bactéricide vis-à-vis des germes en expérience.

Dans ce but, on prélevait et introduisait dans des tubes stériles autant d'échantillons de 1 cm³ qu'il y avait de souches bactériennes en expérience (deux le plus souvent) : chacun était additionné d'une anse (3 mm. de diamètre) d'une culture en bouillon, âgée de 24 heures, d'un des germes considérés. Ces tubes témoins étaient placés à l'étuve pendant 24 heures, puis on effectuait, à partir de chacun, un repiquage sur gélose inclinée. Les subcultures devaient être positives, sinon la suite de l'essai était considérée comme non valable.

Signalons que l'excrétion d'urine naturellement bactéricide, qui est un phénomène assez courant chez le chien (DAVIS (19)), a été remarquée chez le lapin, quelquefois, seulement par LEONARD (47) et par DAVIS.

Au cours de nombreux essais effectués, nous n'avons rencontré que quelques échantillons d'urine naturellement bactéricide. Dans la majorité des cas, les urines recueillies lors des sondages préliminaires ne manifestèrent aucune propriété bactéricide.

b) *Administration de la substance médicamenteuse.*

Le sondage préliminaire ayant été opéré, le lapin était libéré et maintenu par un aide. On lui administrait alors, au moyen d'une sonde œsophagienne adaptée sur une seringue, la quantité préalablement calculée de la solution huileuse médicamenteuse, en prenant soin de rincer la sonde avec quelques centimètres cubes d'huile, de façon à assurer la pénétration dans l'estomac de la totalité de la substance à l'essai. D'ailleurs, le volume total d'huile ainsi administré était toujours compris entre 10 et 15 cm³.

Nous avons vérifié l'innocuité de l'ingestion d'un volume d'huile d'olive pure, égal à celui administré comme solvant des substances en expérience. Nous avons pu constater, d'ailleurs,

dans la suite des essais, que cette huile était bien absorbée et ne passait pas en nature dans les matières fécales.

c) Sondages ultérieurs à l'administration du médicament, et recherche du pouvoir bactéricide des urines recueillies.

Après l'administration médicamenteuse, le lapin était à nouveau sondé à des intervalles divers de temps : nous avons fixé ceux-ci, après tâtonnements, à 2 heures, 4 heures, 6 heures, 8 heures et 24 heures après l'ingestion de l'antiseptique. Les divers échantillons d'urine obtenus étaient essayés, aussitôt après leur prélèvement, quant à leur action bactéricide, comme nous l'avons dit ci-dessus.

On prélevait, après chaque sondage, et pour chaque souche bactérienne en expérience, un échantillon de 1 cm³ d'urine que l'on introduisait dans un tube stérile. On y ajoutait une anse (3 mm.) d'une culture en bouillon, âgée de 24 heures, d'un des germes considérés. Une subculture, faite immédiatement sur gélose inclinée, à partir de chacun de ces tubes, permettait de s'assurer que les germes ajoutés étaient bien vivants au moment de leur ensemencement, et de contrôler par la suite que l'ensemencement de l'urine avait bien été réalisé (tubes témoins).

Les échantillons d'urine ensemencés étaient alors placés à l'étuve à 37° où on les laissait pendant 24 heures. Au bout de ce temps, on effectuait à partir de chacun d'eux, une subculture sur gélose inclinée que l'on laissait, à son tour, séjourner 24 à 48 heures à l'étuve à 37°. Les tubes de subculture restés stériles correspondaient donc aux échantillons d'urine qui avaient exercé une action bactéricide sur les germes mis en expérience.

2° DIFFICULTÉS DE L'ESSAI.

Un certain nombre de difficultés ont été rencontrées au cours de ces essais, les unes tenant à la manipulation elle-même, les autres, aux substances administrées.

a) Nous n'insisterons pas sur les difficultés d'ordre technique. C'est ainsi, par exemple, que la répétition des sondages a amené parfois des phénomènes d'irritation, dont le médicament lui-même n'était pas responsable, mais qui rendaient difficile la poursuite de l'essai.

b) Il existe par contre, dans ces essais, certaines difficultés qui demeurent inévitables car elles tiennent à la nature même des substances étudiées. L'action diurétique de ces substances intervient parfois, entraînant une telle diminution de concentration de la substance active dans l'urine, que le pouvoir bactéricide n'est plus décelable. Pour obvier autant que possible à cet inconvénient, les lapins étaient toujours mis à jeun la veille au soir de l'essai et privés de boisson pendant les huit premières heures suivant l'ingestion de l'antiseptique. Malgré cela, nous avons noté une action diurétique particulièrement marquée dans le cas de l'heptylrésorcine et, dans tous les cas, des variations individuelles importantes de la diurèse.

Un autre inconvénient réside dans le fait que, le rein du lapin étant particulièrement sensible, il peut apparaître des *néphrites* consécutives au passage des médicaments essayés, spécialement après l'administration de fortes doses. Il est évident que de tels incidents peuvent gêner ou même supprimer l'apparition du pouvoir bactéricide dans l'urine.

Nous retrouverons d'ailleurs toutes ces questions et les divers examens qu'elles nous ont suggérés au chapitre de la toxicité générale et de l'action irritante locale.

Enfin, nous avons vu l'importance de la *réaction de l'urine* dans l'activité des antiseptiques urinaires. L'urine des lapins, comme celle de tous les herbivores, est normalement alcaline ; d'un autre côté, sa réaction peut varier au cours de l'essai, par suite de l'ingestion des substances : c'est ce qui se produit presque constamment avec les dérivés diacétylés dont l'hydrolyse amène une acidification de l'urine. Nous avons toujours suivi ces variations de la réaction par la détermination du pH, chaque fois que le sondage fournissait une quantité d'urine suffisante.

De même que pour les essais *in vitro*, nous avons voulu effectuer les essais *in vivo* dans diverses conditions de réaction. Dans ce but, nous avons légèrement modifié la technique, au moins quant à la préparation de l'essai.

3^o MODIFICATIONS APPORTÉES A LA MARCHÉ DE L'ESSAI
POUR ÉTUDIER LES PROPRIÉTÉS ANTISEPTIQUES *in vivo*,
EN URINE ACIDE OU EN URINE ALCALINE.

Nous avons modifié la réaction de l'urine en soumettant les lapins à un régime approprié, deux jours avant l'essai, et à l'administration d'un médicament convenable, alcalinisant ou acidifiant, la veille de l'essai. Nous avons réalisé ainsi les conditions suivantes :

a) *Essais en urine neutre* (pH = 7 — 7,4)

L'urine se trouvait maintenue au voisinage de la neutralité en donnant aux lapins une nourriture composée surtout de son et de pain, pour obvier à la réaction normalement alcaline.

b) *Essais en urine acide* (pH = 5 — 6,6).

La préparation des lapins émettant de l'urine acide était relativement facile, du fait que les substances absorbées avaient tendance à produire une acidification de l'urine. Toutefois, pour assurer cette réaction, 48 heures avant l'essai, le lapin était exclusivement nourri de pain et de son, et, la veille de l'essai, on faisait absorber 1 gramme de chlorhydrate d'ammoniaque mélangé avec du son et un peu d'eau.

c) *Essais en urine alcaline* (pH = 7,4 — 8).

La préparation des lapins était réalisée à l'aide d'une nourriture constituée presque exclusivement de verdure ; de plus, la veille de l'essai, on faisait absorber à l'animal 5 grammes de bicarbonate de sodium mélangés à du son. Malgré cette précaution, la réaction de l'urine ne se maintenait pas toujours dans une zone franchement alcaline pendant toute la durée de l'essai, surtout après l'ingestion des dérivés diacétylés.

Ces modifications du régime, alliées à l'absorption de chlorhydrate d'ammoniaque ou de bicarbonate de sodium, nous ont donc permis d'effectuer l'essai de tous les dérivés examinés, successivement chez des lapins émettant des urines neutres, acides et alcalines.

4^o EXPRESSION DES RÉSULTATS.

Les difficultés expérimentales que nous venons d'exposer, jointes aux variations individuelles des animaux, font que les résultats n'ont pas été d'une régularité absolue. Ainsi, il est arrivé souvent qu'une dose d'antiseptique dont l'ingestion avait provoqué chez le lapin l'émission d'urine bactéricide, se montrait inefficace chez un autre.

D'autre part, très fréquemment, le pouvoir bactéricide conféré à l'urine apparaissait pour un échantillon, disparaissait pour le suivant, puis réapparaissait quelques heures plus tard.

Pour compenser ces irrégularités, nous avons dû multiplier les essais pour chaque dérivé essayé et nous n'avons considéré un résultat comme valable que lorsqu'il avait été obtenu au cours de deux ou trois essais.

Nous avons été ainsi amenée à choisir comme « *dose active par kilogramme d'animal* », la dose qui a permis d'obtenir au moins trois échantillons successifs d'urine bactéricide sur les cinq prélèvements effectués après administration de la substance, en d'autres termes, la dose pour laquelle les urines prélevées aux heures 2, 4 et 6, ou aux heures 4, 6 et 8, et mises en contact pendant 24 heures à 37°, dans des conditions bien définies, avec les microbes nommés plus haut, ont permis d'obtenir des subcultures négatives.

Ainsi, si un seul échantillon d'urine, prélevé à la deuxième heure ou à la quatrième heure, avait manifesté des propriétés bactéricides, l'essai était renouvelé en mettant en expérience une quantité de substance antiseptique un peu plus élevée. Finalement, la dose retenue comme active représentait la moyenne des résultats obtenus dans deux ou trois essais concordants.

5^o SCHÉMA D'UN ESSAI.

*Pouvoir antiseptique in vivo, sur le lapin,
de la cyclohexylrésorcine, vis-à-vis du colibacille
et du staphylocoque doré, en urine acide.*

L'essai que nous rapportons fait suite à des essais de la cyclohexylrésorcine en urine acide, aux doses de 0 gr. 20 et 0 gr. 25 par kilogramme de poids d'animal : l'ingestion de ces doses avait mis

en évidence le pouvoir bactéricide de l'urine au cours de plusieurs prélèvements.

Une dose de 0 gr. 30 par kilogramme est ici mise en expérience. *Lapin n° 41* pesant 2 kgr. 850, nourri de son et de pain pendant les deux jours précédant l'essai et ayant reçu, la veille au soir de l'essai, 2 grammes de chlorhydrate d'ammoniaque.

La dose à administrer était de : $0 \text{ gr. } 30 \times 2,850 = 0 \text{ gr. } 85$ de cyclohexylrésorcine.

Après un sondage préliminaire de la vessie, le lapin a absorbé, au moyen d'une sonde œsophagienne, la dose d'antiseptique dissous dans 10 cm^3 d'huile d'olive. Des sondages ont été effectués 2 heures, 4 heures, 6 heures, 8 heures et 24 heures après l'ingestion et les échantillons d'urine traités comme nous l'avons dit pour la mise en évidence des propriétés bactéricides et la mesure des variations du pH.

Les résultats fournis par les différents échantillons ont été les suivants :

Sondages	pH de l'urine	Subculture après contact de 24 h. à 37°	
		avec le colibacille	avec le staphylocoque doré
Préliminaire	6,6	+	+
Après 2 h.	6,6	0	+
Après 4 h.	6,0	0	0
Après 6 h.	6,2	0	0
Après 8 h.	6,2	0	0
Après 24 h.	6,8	+	+

+ = subcultures positives, donc l'urine ne présentait pas de propriétés bactéricides.

0 = subcultures négatives, donc l'urine présentait des propriétés bactéricides.

Dans cet essai, la dose de 0 gr. 30 s'est montrée très nettement active vis-à-vis du colibacille (subcultures négatives après 2 heures, 4 heures, 6 heures et 8 heures) et vis-à-vis du staphylocoque doré (subcultures négatives après 4 heures, 6 heures et 8 heures).

B. — Résultats des essais du pouvoir antiseptique *in vivo*.

Ainsi que nous l'avons dit précédemment, nous exprimons le pouvoir bactéricide des substances étudiées, *in vivo*, chez le lapin, par la dose, en grammes par kilogramme de poids d'animal, dont

l'ingestion détermine l'émission d'urine bactéricide à l'égard du colibacille, ou du staphylocoque doré, ou de l'entérocoque, dans les conditions précisées ci-dessus.

Pour chaque composé et pour chacun de ces germes, nous rapportons les résultats obtenus chez le lapin émettant des urines neutres (régime approprié), chez le lapin émettant des urines acides (régime approprié et administration de chlorhydrate d'ammoniaque) et chez le lapin émettant des urines alcalines (régime approprié et administration de bicarbonate de sodium).

1^o POUVOIR BACTÉRICIDE DES DÉRIVÉS RÉSORCINIQUES ORDINAIRES.

Nous avons déterminé le pouvoir bactéricide de ces dérivés, *in vivo*, dans l'urine du lapin, vis-à-vis du *colibacille* et vis-à-vis du *staphylocoque doré*, dans les différentes conditions de réaction.

1^o *Hexylrésorcine*.

Nous avons traité, selon la technique décrite précédemment, 15 lapins auxquels ont été administrées des quantités croissantes d'hexylrésorcine, allant de 0 gr. 15 à 0 gr. 60 par kilogramme de poids d'animal.

a) Pouvoir bactéricide vis-à-vis du *colibacille*.

Pour les lapins émettant de l'urine *au voisinage de la neutralité*, la dose nettement active a été de 0 gr. 25 par kilogramme. Les doses de 0 gr. 15 et 0 gr. 20 ont fourni des résultats partiels et la dose de 0 gr. 30 a fait apparaître le pouvoir bactéricide de l'urine constamment pendant les huit premières heures suivant l'ingestion.

Pour les lapins émettant de l'urine *acide*, la dose active a été, de même qu'en urine neutre, de 0 gr. 25 par kilogramme ; des doses supérieures (0 gr. 30 et 0 gr. 40) ont donné des résultats constants et nets.

Pour les lapins émettant de l'urine *alcaline*, aucun résultat n'a été obtenu avec des doses de 0 gr. 30 et 0 gr. 40. Les doses de 0 gr. 50 et 0 gr. 60 ont fourni des résultats pas toujours réguliers ; cependant, nous avons pu fixer la dose moyenne active à 0 gr. 55 par kilogramme.

b) Pouvoir bactéricide vis-à-vis du *staphylocoque doré*.

Pour les lapins émettant de l'*urine au voisinage de la neutralité*, comme pour ceux émettant de l'*urine acide*, la dose de 0 gr. 30 par kilogramme a été nettement active. Cependant, quelques essais avec la dose de 0 gr. 30 et même avec la dose de 0 gr. 35 n'ont pas donné de résultats.

Pour les lapins émettant de l'*urine alcaline*, les doses de 0 gr. 50 et 0 gr. 60 ont été faiblement et irrégulièrement actives.

En somme, le pouvoir bactéricide de l'urine du lapin, après ingestion d'hexylrésorcine, s'est montré le même à l'égard du colibacille et à l'égard du staphylocoque doré et a présenté les mêmes variations suivant les différentes conditions de réaction : l'acidification de l'urine n'a pas changé l'action bactéricide, mais l'alcalinisation paraît l'avoir beaucoup affaiblie.

2^o Heptylrésorcine.

15 lapins ont été traités, dans les mêmes conditions que pour l'hexylrésorcine, avec des doses d'heptylrésorcine croissantes, allant de 0 gr. 20 à 0 gr. 60 par kilogramme de poids d'animal.

a) Vis-à-vis du colibacille.

En *urine neutre*, les doses inférieures à 0 gr. 35 n'ont pas fourni de résultats réguliers ; la dose de 0 gr. 40 s'est montrée nettement active.

En *urine acide*, la dose active semble être supérieure à 0 gr. 40 et 0 gr. 50 par kilogramme ; ces deux doses n'ont pas permis de constater une action bactéricide appréciable.

En *urine alcaline*, les résultats n'ont pas été constants au cours de tous les essais. La dose active moyenne semble être au voisinage de 0 gr. 45, bien que des doses supérieures (0 gr. 50 et 0 gr. 60) se soient montrées quelquefois inefficaces.

b) Vis-à-vis du *staphylocoque doré*.

En *urine alcaline*, aussi bien qu'en *urine neutre*, la dose moyenne active peut être fixée à 0 gr. 35 par kilogramme ; avec une dose de 0 gr. 40, les résultats ont toujours été nets.

En *urine acide*, la dose active semble être supérieure à 0 gr. 50.

Ici, à l'inverse de ce que nous avons noté avec l'hexylrésorcine, c'est l'acidification de l'urine, et non son alcalinisation, qui paraît avoir affaibli le pouvoir bactéricide.

3° Cyclohexylrésorcine.

25 lapins ont été traités avec des doses croissantes de cyclohexylrésorcine, allant de 0 gr. 15 à 0 gr. 60 par kilogramme.

a) Vis-à-vis du colibacille.

En *urine neutre*, les doses de 0 gr. 15 et de 0 gr. 20 ont permis de constater une action bactéricide sensible ; la dose de 0 gr. 25 a été active dans tous les essais.

En *urine acide*, la dose active serait aussi de 0 gr. 25 ; la dose de 0 gr. 30 a donné des résultats constants.

En *urine alcaline*, nous n'avons pas constaté d'action bactéricide avec des doses inférieures à 0 gr. 40 ; avec des doses supérieures (0 gr. 50 et 0 gr. 60), les résultats ont été irréguliers.

b) Vis-à-vis du staphylocoque doré.

Les essais ont donné sensiblement les mêmes résultats que vis-à-vis du colibacille.

En *urine acide*, aussi bien qu'en *urine neutre*, la dose active serait aussi de 0 gr. 25.

En *urine alcaline*, la dose active serait supérieure à 0 gr. 40.

De même que pour l'hexylrésorcine, l'activité de la cyclohexylrésorcine est réduite en urine alcaline.

4° Cyclopentylrésorcine.

10 lapins ont été traités avec des doses croissantes de cyclopentylrésorcine, allant de 0 gr. 25 à 0 gr. 60 par kilogramme.

a) Vis-à-vis du colibacille.

En *urine neutre*, des résultats nets ont été obtenus avec la dose de 0 gr. 30 ; ils n'ont pas été confirmés cependant dans tous les essais.

En *urine alcaline* aussi bien qu'en *urine acide*, nous n'avons pas observé d'action bactéricide avec les doses inférieures à 0 gr. 40 ; la dose de 0 gr. 45 a été nettement active.

b) Vis-à-vis du staphylocoque doré.

En *urine neutre*, la dose de 0 gr. 30 a été constamment active.

En *urine acide*, les résultats ont été irréguliers, même à la dose de 0 gr. 50.

En *urine alcaline*, la dose de 0 gr. 40 a été nettement active.

Au cours de ces essais, la cyclopentylrésorcine a montré un

pouvoir bactéricide légèrement plus fort en urine neutre qu'en urine acide ou alcaline.

5° Méthylheptylrésorcine.

10 lapins ont été traités avec des doses croissantes de méthylheptylrésorcine, allant de 0 gr. 20 à 0 gr. 70 par kilogramme.

a) Vis-à-vis du *colibacille*.

En *urine neutre*, quelques essais, à des doses inférieures à 0 gr. 40, n'ont pas fourni de résultats nets.

En *urine alcaline*, aussi bien qu'en *urine acide*, nous n'avons observé aucune action bactéricide avec des doses égales ou inférieures à 0 gr. 60 par kilogramme ; la dose active serait nettement supérieure à ce chiffre.

b) Vis-à-vis du *staphylocoque doré*.

Les essais ont donné les mêmes résultats vis-à-vis de ce germe que vis-à-vis du *colibacille*, c'est-à-dire que les doses actives sont mal définies et certainement supérieures à 0 gr. 40 en urine neutre, 0 gr. 60 en urine acide ou en urine alcaline.

6° Ethylphénylrésorcine.

10 lapins ont été traités avec des doses d'éthylphénylrésorcine allant de 0 gr. 20 à 0 gr. 40 par kilogramme.

Vis-à-vis du *colibacille* comme vis-à-vis du *staphylocoque doré* et quelle que soit la réaction de l'urine, nous avons obtenu dans chaque cas, avec les mêmes doses, des résultats inconstants.

Ainsi, nous avons pu constater dans certains essais, une action bactéricide sensible avec une dose de 0 gr. 25, tandis que dans d'autres essais, aucune action bactéricide n'est apparue avec une dose de 0 gr. 30. Nous avons placé la dose moyenne active, dans tous les cas, aux environs de 0 gr. 35.

Il semble ressortir de ces essais que la réaction de l'urine n'a aucune influence sur le pouvoir bactéricide de l'éthylphénylrésorcine.

7° Diéthyléthylrésorcine.

12 lapins ont été traités avec des doses de diéthyléthylrésorcine, allant de 0 gr. 25 à 0 gr. 50 par kilogramme.

a) Vis-à-vis du *colibacille*.

En *urine neutre*, des résultats nets ont été obtenus avec les doses de 0 gr. 25 et de 0 gr. 30, dans plusieurs essais. Cependant, dans un essai, l'action bactéricide n'a pas été constatée avec une dose de 0 gr. 50. Nous avons fixé la dose moyenne active à 0 gr. 35.

En *urine alcaline*, la dose de 0 gr. 45 s'est montrée nettement active ; les doses inférieures ont donné des résultats non constants.

En *urine acide*, comme en urine neutre, les résultats des essais n'ont pas toujours été réguliers et la dose moyenne active a été fixée à 0 gr. 35.

b) Vis-à-vis du *staphylocoque doré*.

Quelle que soit la réaction de l'urine, les essais effectués avec des doses allant de 0 gr. 25 à 0 gr. 50 ont permis de conclure que la dose active doit être supérieure, dans tous les cas, à 0 gr. 50.

2^o POUVOIR BACTÉRICIDE DES DÉRIVÉS RÉSORCINIQUES DIACÉTYLÉS.

Nous avons déterminé le pouvoir bactéricide de la diacétylheptylrésorcine et de la diacétylcyclohexylrésorcine, *in vivo*, chez le lapin, en urine neutre, en urine acide et en urine alcaline, non seulement à l'égard des deux germes considérés dans les essais précédents, le *colibacille* et le *staphylocoque doré*, mais encore à l'égard d'un troisième germe susceptible de se développer dans l'urine, l'*entérocoque*.

1^o Diacétylheptylrésorcine.

Nous avons traité 22 lapins avec des doses de diacétylheptylrésorcine, allant de 0 gr. 10 à 0 gr. 80 par kilogramme.

a) Vis-à-vis du *colibacille*.

En *urine acide* et en *urine alcaline* aussi bien qu'en *urine neutre*, nous avons obtenu les mêmes résultats :

Des doses de 0 gr. 10 et 0 gr. 15 ont permis de constater le pouvoir bactéricide de un ou de deux échantillons d'urine au cours de chaque essai.

Les doses de 0 gr. 20 et 0 gr. 30, que nous avons considérées comme « doses actives », ont presque toujours provoqué l'émis-

sion d'urine bactéricide pendant les 6 ou 8 premières heures suivant l'ingestion. Avec des doses légèrement supérieures (0 gr. 30 et 0 gr. 35), les résultats ont été constants.

b) Vis-à-vis du *staphylocoque doré*.

En *urine neutre*, nous n'avons observé aucune action bactéricide avec des doses inférieures à 0 gr. 50, et nous avons observé une action irrégulière avec des doses de 0 gr. 60 et 0 gr. 70. Nous avons fixé la dose active à 0 gr. 70 par kilogramme.

En *urine acide*, les doses de 0 gr. 50, 0 gr. 60 et 0 gr. 70, ont donné des résultats variables au cours de nombreux essais. Nous avons fixé la dose moyenne active à 0 gr. 60.

En *urine alcaline*, les doses de 0 gr. 50 et 0 gr. 60 ont donné des résultats inconstants ; la dose de 0 gr. 70 s'est montrée nettement active.

Dans tous les cas, le pouvoir bactéricide de l'urine s'est manifesté assez irrégulièrement, et des doses supérieures à celles indiquées comme doses actives se sont montrées quelquefois inefficaces.

c) Vis-à-vis de l'*entérocoque*.

En *urine acide* aussi bien qu'en *urine neutre*, aucun résultat, même partiel, n'a été obtenu avec des doses égales ou inférieures à 0 gr. 60.

En *urine alcaline*, chez un seul lapin, la dose de 0 gr. 60 s'est montrée active.

Ce résultat, non confirmé chez d'autres lapins, n'a pas été considéré comme valable.

Nous avons donc constaté avec la diacétylheptylrésorcine, agissant, *in vivo*, par passage dans l'urine du lapin, un pouvoir bactéricide très net vis-à-vis du colibacille, très réduit vis-à-vis du staphylocoque doré, et presque nul vis-à-vis de l'entérocoque.

La réaction de l'urine n'a pas influé sensiblement, au cours de nos essais, sur l'activité antiseptique.

2° *Diacétylcyclohexylrésorcine*.

Nous avons traité 24 lapins avec des doses de diacétylcyclohexylrésorcine allant de 0 gr. 15 à 0 gr. 80 par kilogramme.

a) Vis-à-vis du *colibacille*.

En *urine neutre*, nous avons observé un pouvoir bactéricide

assez net avec des doses de 0 gr. 30 et 0 gr. 35. Nous avons fixé la dose active à 0 gr. 35, bien que quelques résultats irréguliers aient été constatés avec des doses supérieures (0 gr. 40 et 0 gr. 50).

En *urine acide*, des doses de 0 gr. 20 et 0 gr. 25 ont permis, dans plusieurs essais, de constater une action bactéricide pour deux échantillons d'urine, dans les premières heures suivant l'ingestion. La dose de 0 gr. 30 s'est montrée nettement active.

En *urine alcaline*, nous avons observé, comme en urine acide, une activité bactéricide non négligeable avec des doses de 0 gr. 15 et 0 gr. 20. Des doses de 0 gr. 35 et 0 gr. 40 se sont montrées nettement actives et des doses supérieures (0 gr. 50 et 0 gr. 60) ont donné des résultats constants.

b) Vis-à-vis du *staphylocoque doré*.

Quelle que soit la réaction de l'urine, nous n'avons jamais constaté d'action bactéricide avec des doses inférieures à 0 gr. 50 par kilogramme, et les essais effectués avec des doses supérieures ont donné des résultats souvent irréguliers.

Nous avons pu fixer les doses actives :

En *urine acide*, assez nettement, vers 0 gr. 50 — 0 gr. 60.

En *urine neutre* et en *urine alcaline*, au voisinage de 0 gr. 60 — 0 gr. 70.

c) Vis-à-vis de l'*entérocoque*.

En *urine acide* et en *urine alcaline*, aussi bien qu'en *urine neutre*, nous n'avons observé aucune action bactéricide avec des doses égales ou inférieures à 0 gr. 60.

En résumé, la diacétylcyclohexylrésorcine ainsi que la diacétylheptylrésorcine confèrent à l'urine du lapin un pouvoir bactéricide net à l'égard du colibacille, plus faible à l'égard du staphylocoque doré, et nul à l'égard de l'entérocoque. La réaction de l'urine ne paraît pas modifier sensiblement l'action antiseptique.

Nous avons résumé les résultats que nous venons d'exposer dans le tableau suivant, dans lequel les chiffres indiquent, en grammes par kilogramme de poids d'animal, les doses actives moyennes à l'égard de chaque germe considéré.

**Pouvoir antiseptique *in vivo* chez le lapin.
Doses actives par kilogramme de poids d'animal.**

Substances essayées	Nombre de lapins traités	Urine neutre			Urine acide			Urine alcaline		
		Coli-bacille	Staphylocoque	Entéro-coque	Coli-bacille	Staphylocoque	Entéro-coque	Coli-bacille	Staphylocoque	Entéro-coque
Hexylrésorcine	15	0,25	0,30		0,25	0,30		0,55	0,60	
Heptylrésorcine . . .	15	0,40	0,35		> 0,40	> 0,50		0,45	0,35	
Cyclohexyl-résorcine	25	0,20 0,25	0,20 0,25		0,25	0,25		> 0,40	> 0,40	
Cyclopentyl-résorcine	10	0,30	0,30		0,45	> 0,45		0,45	0,40	
Diéthyléthyl-résorcine	12	0,35	> 0,50		0,35	> 0,50		0,45	> 0,50	
Téthylheptyl-résorcine	10	> 0,40	> 0,40		> 0,60	> 0,60		> 0,60	> 0,60	
Phénylphényl-résorcine	10	0,35	0,35		0,35	0,35		0,35	0,35	
Diacétylheptyl-résorcine	22	0,20 0,25	0,70	> 0,60	0,20 0,25	0,60	> 0,60	0,20 0,25	0,70	> 0,60
Diacétylcyclohexyl-résorcine	24	0,35	0,60 0,70	> 0,60	0,30	0,50 0,60	> 0,60	0,40	0,60 0,70	> 0,60

Enfin, le *temps d'action* après l'absorption représente un caractère commun à toutes ces substances. En effet, pour les doses actives de tous les composés étudiés, le pouvoir bactéricide de l'urine apparaissait dès les premières heures après l'ingestion, se maintenait jusqu'à 6 heures et 8 heures, et disparaissait presque toujours après 24 heures.

C. — Conclusions de l'essai *in vivo* du pouvoir antiseptique.

L'examen des résultats précédents nous permet d'énoncer quelques conclusions sur le pouvoir antiseptique *in vivo* des trois groupes de substances étudiées.

1^o DÉRIVÉS RÉSORCINIQUES ORDINAIRES.

a) *D'une manière générale*, il apparaît que les dérivés résorciniques étudiés présentent une action bactéricide *in vivo* tout à fait intéressante.

Les deux dérivés les plus actifs sont incontestablement la

cyclohexylrésorcine et l'*hexylrésorcine*, antiseptiques sensiblement équivalents et qui, dans l'ordre des activités décroissantes, se placent en tête des essais, vis-à-vis du colibacille comme vis-à-vis du staphylocoque doré, avec une légère infériorité cependant pour les essais en urine alcaline.

L'*éthylphénylrésorcine*, qui se classe immédiatement après, représente un bon dérivé, agissant également bien à l'égard de l'un ou de l'autre germe, indépendamment de la réaction du milieu.

Viennent ensuite l'*heptylrésorcine* et la *cyclopentylrésorcine* dont l'action bactéricide, égale pour le colibacille et le staphylocoque doré, est assez importante et ne subit pas d'atténuation avec une alcalinisation de l'urine.

La *diéthyléthylrésorcine* est plus difficile à classer parce que son action s'exerce différemment selon le germe considéré. A l'égard du colibacille, son pouvoir bactéricide est à peu près égal à celui de la cyclopentylrésorcine, tandis qu'à l'égard du staphylocoque doré, son pouvoir bactéricide est sensiblement plus faible et irrégulier.

Enfin, il s'est confirmé dans ces essais *in vivo* que la *méthylheptylrésorcine*, que nous avons déjà citée en dernier à propos de l'action antiseptique *in vitro*, est un dérivé nettement inférieur aux précédents.

b) Si nous considérons plus spécialement l'action particulière à l'égard de chacun des germes en expérience, la plus grande partie des dérivés résorciniques ordinaires (*cyclohexylrésorcine*, *heptylrésorcine*, *éthylphénylrésorcine* et *cyclopentylrésorcine*) présente un pouvoir bactéricide équivalent vis-à-vis du colibacille ou du staphylocoque doré. Cependant, l'action moins marquée de l'*hexylrésorcine* et surtout de la *diéthyléthylrésorcine* sur le staphylocoque doré, permet de penser que le colibacille est légèrement plus sensible que le staphylocoque doré, à l'inverse de ce que nous avons observé *in vitro*.

c) L'influence de la réaction de l'urine sur le pouvoir bactéricide ne nous a pas paru prépondérante pour les dérivés résorciniques ordinaires. Une diminution du pouvoir antiseptique dans l'urine du lapin rendue alcaline par l'ingestion de bicarbonate de sodium, a été seulement sensible pour l'*hexylrésorcine* et pour la *cyclohexylrésorcine*. Nous retrouvons ici l'influence

défavorable exercée par le bicarbonate sur le pouvoir bactéricide de l'hexylrésorcine et que LEONARD (51) expliquait par l'action inverse de ces deux substances sur la tension superficielle de l'urine. Nous avons remarqué, d'ailleurs, dans nos essais, qu'il s'agissait seulement d'un affaiblissement de l'activité, mais nous n'avons jamais observé une disparition complète du pouvoir bactéricide.

2° DÉRIVÉS RÉSORCINIQUES DIACÉTYLÉS.

Les deux dérivés résorciniques diacétylés sont des antiseptiques très actifs *in vivo*, au moins dans certaines conditions.

a) D'une façon générale, la diacétylheptylrésorcine est légèrement supérieure à la diacétylcyclohexylrésorcine.

b) L'activité bactéricide de l'urine des lapins traités par ces deux substances présente des variations importantes *selon le germe considéré* : colibacille, staphylocoque doré ou entérocoque.

La diacétylheptylrésorcine et la diacétylcyclohexylrésorcine sont des substances antiseptiques très actives à l'égard du colibacille ; elles le sont beaucoup moins à l'égard du staphylocoque doré et il semble bien qu'elles ne le soient pas du tout à l'égard de l'entérocoque, au moins dans les conditions de nos essais, sinon à des doses dépassant des doses thérapeutiques.

c) Quant à la réaction de l'urine, elle ne paraît pas influencer sur le pouvoir bactéricide.

Nous avons déjà fait remarquer qu'il nous avait été difficile de maintenir la réaction de l'urine des lapins à un pH supérieur à 7-7,4 pendant les huit premières heures suivant l'ingestion, à plus forte raison pendant les 24 heures d'un essai, car les dérivés résorciniques diacétylés produisent rapidement, par leur élimination, une acidification très marquée de l'urine. Les essais intitulés « en urine alcaline » ont donc, dans ce cas, leur caractéristique applicable seulement aux premières heures de l'essai.

d) Si nous comparons l'activité bactéricide *in vivo* de la diacétylheptylrésorcine et de la diacétylcyclohexylrésorcine à celle de l'hexylrésorcine et des dérivés résorciniques correspondants non acétylés, heptylrésorcine et cyclohexylrésorcine :

1° Vis-à-vis du colibacille, la diacétylheptylrésorcine est nettement plus active que l'heptylrésorcine et que l'hexylrésorcine

elle-même ; la diacétylcyclohexylrésorcine et la cyclohexylrésorcine ont sensiblement la même activité, voisine de celle de l'hexylrésorcine.

2^o Vis-à-vis du *staphylocoque doré*, l'activité bactéricide des deux dérivés résorciniques diacétylés est plutôt inférieure à celle des dérivés non acétylés correspondants et à celle de l'hexylrésorcine, même en urine acide.

CHAPITRE II

Toxicité générale et action irritante des dérivés résorciniques.

Données bibliographiques.

Une des premières constatations sur les propriétés des alcoyl-résorcines fut, qu'à l'inverse du pouvoir bactéricide, leur toxicité diminuait avec la longueur de la chaîne latérale. Nous remarquons ici une analogie avec ce qui avait été observé antérieurement (1905) par CHASSEVANT et GARNIER (14) pour les dérivés monosubstitués du benzène dont la toxicité générale, éprouvée à l'égard du cobaye, est inversement proportionnelle à la grandeur moléculaire du radical hydrocarboné substitué.

La toxicité des deux dérivés résorciniques les plus marquants, l'hexylrésorcine et l'heptylrésorcine, fut recherchée par LEONARD (48) en même temps qu'il précisait leur activité antiseptique chez le lapin, puis chez l'homme. A sa suite, de nombreux auteurs déterminèrent la toxicité de ces mêmes dérivés et de quelques autres sur divers animaux.

Nous verrons, après ces données sur la toxicité générale, l'action irritante locale des dérivés de la résorcine.

I. — TOXICITÉ GÉNÉRALE CHEZ LES ANIMAUX.

LEONARD (1924) put faire absorber au lapin, par voie buccale et en solution dans l'huile d'olive, non seulement de fortes doses uniques d'hexylrésorcine (1 gr. à 2 gr. 50), mais aussi des doses assez importantes (0 gr. 50, soit près de 0 gr. 20 par kgr.) répétées pendant dix jours consécutifs. Il n'observa aucun effet toxique, soit immédiat, soit retardé ; l'examen des urines montra

que le fonctionnement des reins restait normal et l'examen des organes pratiqué sur des animaux après sacrifice ne révéla aucun changement pathologique.

La toxicité de l'hexylrésorcine fut plus difficile à déterminer par d'autres voies, en raison de la solubilité très faible de ce produit. Cependant, LEONARD a pu injecter sans danger dans les veines du lapin un volume assez important d'une émulsion au 1/600, représentant 28 mgr. d'hexylrésorcine par kilogramme de poids d'animal.

Par voie sous-cutanée, l'injection de solutions huileuses concentrées produisait une nécrose locale des tissus. LEONARD avait constaté, en effet, que les solutions d'hexylrésorcine et d'heptylrésorcine dans l'alcool, l'éther et le chloroforme sont très irritantes et très astringentes et cet inconvénient, très atténué en présence d'huile d'olive, n'a pas été cependant éliminé.

Des expériences identiques conduites avec l'heptylrésorcine permirent à LEONARD de conclure à l'absence de toxicité de ces deux composés chez le lapin, et, en particulier, à leur innocuité pour l'appareil urinaire après administration buccale.

Cependant, l'étude de la toxicité comparée de différentes alcoylrésorcines, par voie buccale, poursuivie par divers auteurs, devait fournir quelques résultats contradictoires.

Au cours d'essais d'antisepsie intestinale par l'heptylrésorcine, administrée par voie buccale, RATCLIFF (1929) (60) a pu faire absorber à des rats, des doses quotidiennes de 0 gr. 10, répétées pendant 15 jours, sans observer aucun effet toxique ; dans des expériences analogues, FAUST (1930) (24) a noté une parfaite tolérance chez des rats, des chiens et des singes mis en traitement pendant plusieurs semaines. Contrairement à LEONARD et aux deux derniers auteurs, DAVID et LEAKE (1930) (20) ne reconnurent pas l'innocuité des dérivés résorciniques. Ils constatèrent une toxicité assez importante de l'heptylrésorcine chez le cobaye : la dose moyenne létale serait de 0 gr. 40 par kilogramme. La mort survenait en 1 jour, précédée de diarrhée, perte de poids, léthargie, anorexie ; à l'autopsie, l'intestin, le foie et les reins étaient congestionnés. Les auteurs ont fait ressortir que l'action toxique peut être observée pour des doses peu supérieures aux doses curatives utilisables dans les infections intestinales.

Comme suite à ces résultats, ANDERSON, DAVID et LEAKE (1931) (1) en déterminant sur le cobaye les toxicités de l'hexyl-

résorcine, l'heptylrésorcine et l'octylrésorcine, conclurent, à l'inverse de l'affirmation de LEONARD, qu'il y avait une augmentation de toxicité parallèle à l'augmentation de poids de la chaîne alcoylée. Cependant, dans des expériences moins nombreuses, effectuées sur le lapin, cette augmentation de toxicité était moins marquée. Surtout, ils purent constater à ce propos que la toxicité des dérivés résorciniques essayés était plus grande lorsqu'ils étaient absorbés sous forme cristalline qu'en solution. Ainsi, chez 6 lapins en expérience, une dose d'hexylrésorcine de 0 gr. 75 par kilogramme, administrée en solution dans l'éthylène glycol, produisit seulement une légère diarrhée et une perte transitoire de poids pour tous les animaux, tandis que la même dose, administrée sous forme cristalline, en capsules de gélatine, produisit la mort d'un groupe de 6 lapins en 5 jours. Quant à l'heptylrésorcine dissoute dans l'huile d'olive, sa toxicité était peu différente de celle de l'hexylrésorcine : une dose de 0 gr. 75 ne tua pas les animaux, qui succombèrent cependant après une dose de 1 gr. par kilogramme. En revanche, avec l'octylrésorcine, 2 lapins sur 3 moururent après absorption d'une dose de 0 gr. 50 par kilogramme, administrée sous forme cristalline.

Ces auteurs observèrent sur le lapin, après absorption de très fortes doses d'hexylrésorcine, des érosions, des hémorragies pétéchiales et de petites surfaces de nécrose dans l'estomac, et une dégénérescence hyaline des cellules épithéliales des tubes contournés du rein. Des lésions semblables ont été rapportées par CLAPHAM (1932) (16) chez la souris, après absorption de doses léthales d'hexylrésorcine.

Au cours d'une étude très approfondie sur les anthelminthiques, LAMSON, BROWN et WARD (1935 et précédemment) (45) ont évalué la toxicité relative des différentes alcoylrésorcines à chaîne normale chez le rat blanc : comme l'avait initialement affirmé LEONARD, ils ont retrouvé une diminution de la toxicité avec l'augmentation de longueur de la chaîne latérale. Ils donnèrent, pour l'hexylrésorcine, chez le rat, une dose léthale moyenne de 0 gr. 70 par kilogramme et poursuivirent chez d'autres animaux l'expérimentation de ce dérivé, comparative-ment aux résultats obtenus par d'autres auteurs. Ainsi, chez le rat, MAPLESTONE et CHOPRA (1934) (55) avaient constaté une sensibilité particulière à l'hexylrésorcine qui est mortelle à des doses allant de 0 gr. 325 à 0 gr. 52 par kilogramme. Ce fut con-

firmé par LAMSON et ses collaborateurs (45) qui observèrent la mort de 3 chats en expérience après absorption d'une dose de 0 gr. 36 par kilogramme.

Chez le chien, LAMSON, BROWN et WARD (45), en opérant sur de grandes séries d'animaux, estimèrent qu'il y avait une parfaite tolérance de l'hexylrésorcine : 1 gr. par jour, administré pendant 10 jours, ne produisait aucun effet fâcheux et un chien reçut même cette dose pendant 200 jours consécutifs sans manifester aucun symptôme et en continuant à augmenter de poids. Des chiens pesant 10 kgr. ont absorbé jusqu'à 5 gr. sans qu'on puisse observer des signes graves d'intoxication. De la diarrhée est survenue quelquefois, mais ces signes d'irritation gastro-intestinale disparaissaient en général après 24 ou 48 heures.

Ces auteurs effectuèrent eux-mêmes des examens microscopiques nombreux après l'absorption d'hexylrésorcine. Ils trouvèrent toujours le rein normal ; l'estomac a pu montrer quelquefois des surfaces blanchâtres et même de petits points hémorragiques, et dans l'intestin, assez rarement, des petites surfaces de rougissement. Ils conclurent que l'hexylrésorcine, aux doses thérapeutiques, ne cause pas de changements pathologiques significatifs si ce n'est, parfois, une irritation du tube digestif.

Cependant, CHRYSTENSEN et LYNCH (1933) (15) avaient observé chez le chien des comportements assez variables. Ils ont pu élever la dose totale absorbée jusqu'à 10 gr. sans qu'il se produisît autre chose que des vomissements. Mais, après 5 doses de 0 gr. 80, répétées deux fois par jour, un chien mourut en présentant des lésions pathologiques graves, en particulier des lésions du cœur et du foie. Envisageant l'utilisation de l'hexylrésorcine comme anthelmintique, ils estimèrent que, si des doses thérapeutiques uniques ne causent pas de troubles apparents, on peut observer, après des doses répétées, de l'inflammation et de la nécrose dans le petit intestin. Comme LAMSON et ses collaborateurs, ils n'observèrent jamais de lésion du rein.

Enfin, WRIGHT, BOZICEVICH et UNDERWOOD (1931) (80) ont observé chez un porc pesant 21 kgr. 800 la tolérance d'une dose unique de 13 gr. d'hexylrésorcine. Au cours d'essais conduits sur le cobaye, ils ont estimé que des lésions microscopiques constatées dans le foie et dans le rein ne devaient pas être imputables à l'hexylrésorcine.

Ces essais, fort variés, effectués après ceux de LEONARD, sur

les animaux, étaient en relation avec la recherche d'un anthelmintique actif et non toxique utilisable en médecine vétérinaire.

Pour l'utilisation thérapeutique, il est évident que cet examen de la toxicité chez l'animal doit être complété par l'expérimentation chez l'homme.

II. — TOXICITÉ GÉNÉRALE DE L'HEXYLRÉSORCINE ET DE L'HEPTYLRÉSORCINE CHEZ L'HOMME.

Là aussi, les principaux essais sont dus à LEONARD (1924) (47 et 48) qui put constater que, chez l'homme, l'hexylrésorcine et l'heptylrésorcine étaient aussi inoffensives que chez le lapin.

Il mit en observation des individus normaux qui reçurent quotidiennement des doses de 0 gr. 15 à 0 gr. 63 d'hexylrésorcine, trois fois par jour, pendant 6 semaines consécutives, soit au total 45 gr. L'absorption s'effectuait sous forme de capsules de gélatine renfermant une solution d'hexylrésorcine dans l'huile d'olive, à des concentrations variables (20 à 50 %). Aucun symptôme toxique ne fut observé ; l'examen des urines et la mesure de l'activité fonctionnelle des reins ne révélèrent aucune perturbation. Cependant, LEONARD signala qu'il peut se produire des nausées, après absorption de la solution huileuse à 50 %, un effet diurétique et une légère irritation intestinale lors des premières doses. Ces symptômes ne persistent pas, malgré la continuation de l'absorption médicamenteuse, et l'irritation gastrique peut être facilement prévenue par ingestion d'un verre de lait.

De même, l'heptylrésorcine a été administrée par LEONARD et ses collaborateurs, par KETRON en particulier, à des doses allant jusqu'à 1 gr., 3 fois par jour et pendant 10 semaines consécutives, sans produire d'effets toxiques.

FAUST (1930) (24) a rapporté aussi l'administration de fortes doses quotidiennes d'heptylrésorcine sans aucun signe d'intoxication ; chez des enfants de 2 à 9 ans, traités pendant plusieurs semaines, il put seulement observer, chez deux d'entre eux, une légère douleur gastrique.

Le fait le plus significatif et le plus certain qui ressort déjà des observations que nous venons de rapporter sur la toxicité des alcoylrésorcines est leur action irritante locale sur le tube digestif. Nous allons l'examiner plus spécialement.

III. — ACTION IRRITANTE LOCALE DES ALCOYLÉRÉSORCINES.

LEONARD avait signalé une propriété irritante de l'hexylrésorcine, surtout manifeste pour des solutions alcooliques, éthérées ou chloroformiques et très atténuée pour les solutions huileuses.

De même, on peut en rapprocher les recherches de MAPLESTONE et CHOPRA (1934) (55) qui, au cours de recherches comparatives effectuées chez le chat, observèrent que l'hexylrésorcine en solution alcoolique agit plus fortement sur la muqueuse de l'estomac et du duodénum qu'en solution dans l'huile d'olive ; après l'absorption dans l'intestin, l'action de l'hexylrésorcine sur le foie et le rein est indépendante du solvant.

Nous avons noté ci-dessus que sous forme cristalline, la toxicité des alcoylrésorcines était bien plus manifeste qu'en solution huileuse. Ceci explique, sans doute, comme l'ont remarqué LAMSON et ses collaborateurs (1935) (45) que l'hexylrésorcine, pour être efficace contre les ascaris, doit être prise sous forme cristalline, en pilules par exemple ; or, chez quelques patients qui mâchèrent ces pilules, il se produisit une irritation temporaire de la bouche.

Un tel inconvénient frappa ces auteurs qui étudièrent systématiquement les alcoylrésorcines et d'autres alcoylphénols dans le but d'obtenir un anthelmintique aussi efficace que l'hexylrésorcine, mais non irritant dans la bouche.

Ils appliquèrent à l'étude de cette action irritante différents procédés.

Chez l'homme d'abord, en plaçant une petite quantité de substance pure sur la langue, on pouvait apprécier une sensation de chaleur ou de brûlure plus ou moins prononcée, suivie d'une légère sensation d'anesthésie, et même d'une lésion superficielle avec blanchissement de la muqueuse, comme on l'observe avec les substances phénoliques.

Des essais sur la muqueuse de la bouche des chiens, sur la peau des lapins et des rats, comparés à ceux effectués sur la langue de l'homme, montrèrent que toutes les alcoylrésorcines jusqu'à l'octylrésorcine possèdent des propriétés irritantes marquées ; ce pouvoir irritant baisse avec l'octylrésorcine, tandis que les

termes supérieurs ne montrent plus aucune action irritante (en même temps, d'ailleurs, qu'il y a disparition de l'action anthelmintique *in vitro*).

Enfin, LAMSON utilisa une méthode spéciale pour déterminer l'intensité de l'action irritante locale produite dans l'estomac par les dérivés phénoliques. Il administrait à des chiens, à des temps variables après l'absorption du composé essayé, une enzyme protéolytique, qui n'attaque pas les muqueuses intactes, mais digère la paroi de l'estomac plus ou moins fortement si elle a été lésée. Sur une série de 21 chiens, il constata ainsi que quelques heures après l'absorption d'hexylrésorcine, l'estomac peut être suffisamment irrité pour que l'action de l'enzyme produise de petites lésions hémorragiques ; 24 heures après l'ingestion, les lésions sont beaucoup moins marquées, 48 heures après, très légères, et 72 heures après, absentes, ce qui montrait que l'irritation produite était superficielle et rapidement guérie.

Nous rapprocherons de ces données sur la toxicité générale des dérivés de la résorcine, des expériences effectuées par SALLE et LAZARUS (1935) (71) qui ont comparé la résistance du tissu embryonnaire et celle des bactéries vis-à-vis de diverses substances germicides, en particulier le phénol, le mercurochrome et l'hexylrésorcine : avec un coefficient phénol, vis-à-vis du staphylocoque doré, égal à 108, l'hexylrésorcine montra, en présence d'une culture de tissu, un index de toxicité égal à 3,0 contre 12,9 pour le phénol ; en raison de cette non toxicité, l'hexylrésorcine se trouvait ainsi à la tête des antiseptiques étudiés.

En somme, il restait que les alcoylrésorcines et, en particulier, l'hexylrésorcine possèdent un pouvoir irritant non négligeable qui peut se manifester sur l'étendue du tube digestif par des lésions superficielles des muqueuses, des vomissements, de la diarrhée. Ces symptômes sont assez rares, se produisent surtout lorsque ces composés ne se trouvent pas à l'état dissous et ils ont toujours paru superficiels et transitoires. Il semblait bien établi, par contre, que ces dérivés résorciniques n'avaient pas d'action nocive sur le rein, et c'était là l'essentiel pour les introduire dans la thérapeutique des infections urinaires.

ESSAIS PERSONNELS

Nous avons considéré pour tous les composés étudiés la toxicité générale et l'action irritante exercée sur l'appareil urinaire.

Nous rapporterons, sur ces deux points de vue, les essais que nous avons réalisés et les résultats obtenus.

I. — TOXICITÉ GÉNÉRALE

La toxicité des dérivés résorciniques simples a été déterminée chez le rat blanc, par administration buccale.

Nous n'avons pu opérer dans les mêmes conditions pour les dérivés résorciniques acétylés, étudiés ultérieurement. La pénurie d'animaux nous a contrainte d'utiliser des souris au lieu de rats et de limiter les essais. Il était alors difficile d'effectuer une détermination précise de toxicité. Nous nous sommes efforcée de faire, au moins, sur de petits groupes de souris, des essais comparatifs avec les dérivés résorciniques acétylés et les dérivés résorciniques simples correspondants.

Nous exposerons d'abord la technique générale de nos essais, puis les résultats de son application à ces différentes substances.

1. Technique d'essai de la toxicité, par voie buccale, chez le rat blanc et chez la souris blanche.

Dans les mesures rigoureuses de toxicité, la détermination de la dose léthale moyenne, c'est-à-dire celle qui tue 50 % des animaux d'essai, se fait, avec le minimum d'erreurs, en appliquant la formule de KÆRBER et BEHRENS (*). Cette méthode nécessite un grand nombre d'animaux et elle n'était pas praticable dans les conditions de nos essais.

Nous avons simplement appelé « *dose toxique* », la quantité minima de chaque substance qui, administrée par voie buccale, produisait la mort de l'animal d'expérience en 24 heures environ, ces quantités étant rapportées au kilogramme d'animal.

Les animaux utilisés étaient soit des rats blancs, sains, adultes, pesant 180 à 250 gr., soit des souris blanches, mâles, adultes, pesant de 18 à 25 gr. Ces animaux provenaient d'un même élevage et étaient nourris dans les mêmes conditions pen-

* Cette méthode est exposée dans l'article de J. RÉGNIER, S. LAMBIN et E. SZOLLOESI : De la détermination de la toxicité des substances médicamenteuses. *Bull. Sc. Pharm.*, 1937, t. 44, p. 81.

dant plusieurs jours avant d'être soumis à un essai; ils étaient maintenus à jeun pendant 6 heures au moins avant l'essai.

La *substance à essayer* était généralement dissoute dans l'huile d'olive neutre au moment de l'essai. Dans le cas des substances insolubles dans l'huile, on préparait une suspension de la substance dans l'huile ou dans l'eau, en présence d'une petite quantité de poudre de gomme arabique. Le titre des solutions ou suspensions dépendait de la quantité de substance à administrer et du volume absorbable par les animaux d'essai (1 à 2 cm³ pour les rats, quelques dixièmes de cm³ pour les souris).

Avec les *rats*, l'animal ayant été pesé, on lui administrait, à l'aide d'une seringue graduée en vingtième de cm³ et d'une aiguille de nickel à bout rond, la quantité convenable de la substance antiseptique. L'animal était ensuite mis en observation, l'aspect des selles étant noté ainsi que les émissions d'urine.

La principale difficulté technique consistait à introduire l'aiguille assez profondément dans l'œsophage du rat, pour éviter que le médicament puisse passer dans la trachée, ce qui eût entraîné fatalement la mort de l'animal par asphyxie. Quelques accidents se produisirent ainsi dans l'étude des dérivés de l'hexyl-résorcine : les solutions huileuses de ces corps présentant un pouvoir irritant net sur la muqueuse buccale, l'animal se débattait, faisant parfois passer dans les voies respiratoires une petite parcelle de solution qui suffisait pour produire des suffocations, puis la mort par asphyxie lente. De tels essais étaient évidemment considérés comme nuls, et les animaux étaient aussitôt sacrifiés.

Nous avons utilisé 10 à 12 rats au minimum, et parfois beaucoup plus, pour déterminer la dose minima mortelle de chaque substance, par kilogramme d'animal.

Les autopsies des rats ayant succombé étaient effectuées et l'état des principaux organes était noté.

Des symptômes diarrhéiques ayant été observés parfois, on s'assura qu'ils n'étaient pas imputables à la quantité d'huile ingérée en même temps que le médicament. Dans ce but, des essais témoins furent effectués, par administration d'huile d'olive pure. Les rats auxquels furent administrées des quantités d'huile égales à celles couramment données comme solvant (1 cm³ à 1 cm³ 5) ne manifestèrent aucun signe de diarrhée. Ceux qui reçurent un volume légèrement supérieur (2 cm³) émi-

pendant 48 heures, des selles assez molles, mais donnèrent à nouveau des selles normales, au bout de 3 jours.

Avec la *souris*, la technique était exactement la même qu'avec les rats. L'administration était un peu plus difficile, en raison de la faible capacité stomacale de cet animal, donc du plus grand risque d'étouffement : l'introduction de quelques dixièmes de centimètre cube de liquide est bien supporté, mais l'opération est plus délicate lorsqu'il s'agit d'un volume plus important d'une suspension épaisse. Ainsi, à diverses reprises, lorsque nous avons eu à faire ingérer plus de 1 cm³ d'une bouillie consistante, nous avons fractionné cette quantité en deux prises, espacées de une demi-heure ou une heure. Ces difficultés nuisaient évidemment à la précision du dosage.

Les observations consécutives à l'absorption et les autopsies étaient conduites comme pour les rats.

Nous avons utilisé, pour chaque substance essayée, des groupes aussi homogènes que possible, de 5 ou 10 souris.

2. Résultats des essais.

a) ESSAIS DE LA TOXICITÉ CHEZ LE RAT.

Chez cet animal, nous avons étudié la toxicité des dérivés résorciniques simples : hexylrésorcine, heptylrésorcine, cyclohexylrésorcine, cyclopentylrésorcine, méthylheptylrésorcine et éthylphénylrésorcine.

Les doses toxiques, par kilogramme d'animal, déterminées au cours de nos essais, sont les suivantes :

	Nombre de rats mis en expérience	Dose toxique par kg d'animal
Hexylrésorcine.....	10	1 gr. 50
Heptylrésorcine.....	11	2 gr.
Cyclohexylrésorcine	13	2 gr.
Cyclopentylrésorcine.....	11	2 gr.
Méthylheptylrésorcine	10	1 gr.
Ethylphénylrésorcine.....	10	1 gr.

Détail des essais. — L'hexylrésorcine a été essayée sur 10 rats.

Les doses administrées étaient 0 gr. 40, 0 gr. 80, 1 gr., 1 gr. 50 et 2 gr. par kilogramme. Les groupes de deux rats ayant reçu 0 gr. 40 et 0 gr. 80 ont survécu.

L'un des deux rats ayant reçu 1 gr. est mort en 40 heures,
Deux rats ayant reçu 1 gr. 50 sont morts, l'un en 36 heures,
l'autre en 48 heures.

Deux rats ayant reçu 2 gr. sont morts, l'un en 20 heures, l'autre en 38 heures.

Nous avons donc fixé 1 gr. 50 comme dose toxique par kilogramme d'animal.

L'*heptylrésorcine* a été essayée sur 11 rats.

Les doses administrées étaient : 0 gr. 20, 0 gr. 40, 0 gr. 80, 1 gr., 1 gr. 50 et 2 gr. par kilogramme. Tous les rats ayant reçu des doses inférieures ou égales à 1 gr. 50 par kilogramme ont survécu.

Trois rats ayant reçu 2 gr. sont morts, l'un en 24 heures, l'autre en 48 heures, et le dernier en 72 heures.

Nous avons fixé la dose minima toxique à 2 gr. par kilogramme.

La *cyclohexylrésorcine* a été essayée sur 13 rats.

Les doses administrées étaient : 0 gr. 50, 0 gr. 75, 1 gr., 1 gr. 50 et 2 gr. par kilogramme. Sur 10 rats ayant reçu des doses inférieures ou égales à 1 gr. 50, aucun n'est mort (à l'exclusion d'une seule mort avec 0 gr. 50, qui semble représenter un résultat incohérent).

Sur trois rats ayant reçu 2 gr., l'un a survécu ; les deux autres sont morts, respectivement, en 36 heures et en 48 heures.

Nous n'avons pas effectué l'essai de doses supérieures à 2 gr. par kilogramme, et avons conservé celle-ci comme dose toxique.

La *cyclopentylrésorcine* a été essayée sur 11 rats.

Les doses administrées étaient : 0 gr. 20, 0 gr. 40, 1 gr. 50 et 2 gr. par kilogramme. Aucun des rats ayant reçu une dose inférieure ou égale à 1 gr. 50 n'est mort.

Cinq rats ayant reçu 2 gr. sont morts, l'un en 20 heures, deux en 24 heures, un en 30 heures et un en 50 heures.

La dose de 2 gr. a été retenue comme dose toxique.

La *méthylheptylrésorcine* a été essayée sur 10 rats.

Les doses administrées étaient : 0 gr. 40, 0 gr. 75 et 1 gr. par kilogramme. Un des trois rats ayant reçu 0 gr. 40 et un des trois rats ayant reçu 0 gr. 75 sont morts, le premier en 20 heures, le second en 40 heures.

Quatre rats ayant reçu 1 gr. sont morts, le premier en 15 heures, le second en 20 heures, le troisième en 24 heures, et le quatrième en 48 heures.

Nous avons fixé la dose toxique à 1 gr. par kilogramme.

L'éthylphénylrésorcine a été essayée sur 10 rats.

Les doses administrées étaient : 0 gr. 50, 0 gr. 75 et 1 gr. par kilogramme. Nous n'avons observé aucune mort avec 0 gr. 50.

Un des trois rats ayant reçu 0 gr. 75 est mort en 28 heures.

Trois rats ayant reçu 1 gr. sont morts, le premier en 3 heures, le second en 8 heures, le troisième en 28 heures.

Nous avons fixé la dose toxique à 1 gr. par kilogramme.

Symptômes observés. — Avec ces divers dérivés de l'hexylrésorcine, nous avons observé une certaine asthénie, de la diarrhée, et une irritation marquée des muqueuses se traduisant déjà par une difficulté d'ingestion.

A l'autopsie des animaux ayant succombé aux doses toxiques, nous avons pu noter une irritation intense de l'estomac et de l'intestin grêle, se traduisant par une irrigation excessive de ces organes. Ces lésions ont été apparentes surtout avec l'hexylrésorcine, l'heptylrésorcine et l'éthylphénylrésorcine. Elles ont été le moins marquées dans le cas de la cyclopentylrésorcine.

Dans tous les cas, les reins, les poumons, le foie étaient indemnes.

Conclusion. — Les doses minima toxiques des dérivés résorciniques simples varient de 1 gr. à 2 gr. par kilogramme d'animal. L'heptylrésorcine, la cyclohexylrésorcine et la cyclopentylrésorcine semblent un peu moins toxiques que l'hexylrésorcine. La méthylheptylrésorcine et l'éthylphénylrésorcine seraient plus toxiques.

Rappelons que LAMSON, BROWN et WARD (45) étudiant, chez le rat blanc, la toxicité relative de quelques alcoylrésorcines, avaient donné pour l'hexylrésorcine, une dose léthale moyenne de 0 gr. 70 par kilogramme. Dans nos essais, nous avons trouvé une dose toxique égale à 1 gr. 50 par kilogramme, ce qui placerait la dose léthale moyenne vers 1 gr. De tels écarts ne sont pas rares au cours d'essais effectués sur les animaux, dans des conditions probablement différentes.

Quant aux symptômes toxiques, tous les dérivés résorciniques ont permis de déceler particulièrement une irritation intense des muqueuses buccale, stomacale et intestinale. La substance qui s'est montrée la moins irritante est la cyclopentylrésorcine. Dans tous les cas, les reins, les poumons et le foie ne semblent pas touchés.

b) ESSAIS DE LA TOXICITÉ CHEZ LA SOURIS.

Sur cet animal ont été effectués, ainsi que nous l'avons dit, des essais approximatifs de la toxicité des deux dérivés résorciniques diacétylés, *diacétylheptylrésorcine* et *diacétylcyclohexyl-résorcine*, comparativement aux dérivés résorciniques simples correspondants, heptylrésorcine et cyclohexylrésorcine.

Possédant les doses toxiques de ces derniers composés, obtenues dans les essais chez le rat, nous avons choisi les deux doses de 1 gr. 50 et de 2 gr. par kilogramme comme termes de comparaison pour éprouver la toxicité chez la souris.

L'essai de ces deux doses pour les quatre composés considérés a été réalisé sur des groupes de 5 souris, aussi homogènes que possible.

L'administration se faisait au moyen d'une solution (dérivés diacétylés) ou d'une suspension (dérivés simples) à 10 % dans l'huile d'olive ; le volume à faire ingérer aux souris était voisin de 3 à 4 dixièmes de centimètre cube.

Dans le tableau suivant, nous indiquons pour chacune des deux doses essayées, le nombre d'animaux morts dans un groupe de 5 souris, et la dose toxique approximative qu'on en peut conclure.

	Rapport du nombre d'animaux morts, au nombre d'animaux en expérience		Dose toxique approximative par kg d'animal
	1 gr. 50 par kg	2 gr. par kg	
Heptylrésorcine.....	4/5	4/5	légèrement supérieure à 2 gr.
Diacétylheptylrésorcine	2/5	1/5	nettement supérieure à 2 gr.
Cyclohexylrésorcine	2/5	5/5	2 gr.
Diacétylcyclohexylrésorcine	3/5	5/5	2 gr.

Détail des essais. Symptômes observés. — 1^o Nous avons toujours noté, aussitôt après l'ingestion de ces substances, une gêne marquée, se traduisant fréquemment par des hoquets. Indépendamment du léger traumatisme apporté inévitablement par la manipulation, il semble qu'il y ait, dans le cas de ces substances, une réaction plus spéciale et imputable au pouvoir irritant des composés résorciniques. Nous avons remarqué, à ce propos, que l'absorption des deux dérivés diacétylés se faisait

beaucoup plus facilement que celle des deux dérivés simples, heptylrésorcine et cyclohexylrésorcine, soit que les premiers soient effectivement moins irritants, soit qu'intervienne l'état physique de la préparation administrée (solution dans le cas des résorcines acétylées, suspension dans le cas des résorcines ordinaires).

2° Les *symptômes généraux* d'intoxication, observés sur la souris, après absorption de doses de 1 gr. 50 et de 2 gr. par kilogramme, ont été les mêmes pour les 4 composés étudiés.

Chez quelques animaux seulement, la dose de 1 gr. 50 de l'un ou l'autre des composés n'a produit aucun signe d'intoxication, en dehors de la gêne consécutive à l'ingestion. Chez la majorité des animaux, 15 à 45 minutes après l'ingestion, un début de prostration apparaît nettement. La marche de l'animal est titubante, saccadée ; la résolution musculaire qui lui fait rapidement suite peut aussi apparaître d'emblée.

Dans les cas d'intoxication non mortelle, nous avons observé ces seuls symptômes. Prostration et asthénie persistent pendant 3 à 4 heures, puis, après 5 heures, l'animal reprend quelques mouvements et le retour à l'état normal se fait progressivement.

Dans les cas d'intoxication mortelle, il y a non seulement prostration, mais inertie complète, 45 minutes à 1 heure après l'ingestion ; quelquefois nous avons noté, auparavant, une agitation convulsive des pattes antérieures. La respiration est accélérée, puis saccadée. Finalement, l'animal réagit de moins en moins ; la mort se produit par asphyxie progressive, de 3 heures à 8 heures après l'ingestion.

À l'autopsie, nous avons seulement observé, dans la plupart des cas, une congestion assez intense des intestins, et une irrigation excessive de tous les viscères, témoignant d'une action irritante.

Conclusions. — Nous pouvons tirer, de ces derniers essais, malgré leur brièveté, les conclusions suivantes :

1° Dans les essais effectués sur la souris, comme dans ceux effectués sur le rat et rapportés précédemment, l'heptylrésorcine et la cyclohexylrésorcine semblent présenter la même toxicité.

2° Si nous comparons entre eux les deux résorcines diacétylées, la diacétylheptylrésorcine est nettement moins toxique que la diacétylcyclohexylrésorcine.

3° Si nous comparons chacun des dérivés diacétylés avec le dérivé non acétylé correspondant, nous constatons que la cyclohexylrésorcine et la diacétylcyclohexylrésorcine ont sensiblement la même toxicité ; la diacétylheptylrésorcine est moins toxique que l'heptylrésorcine.

II. — ACTION IRRITANTE SUR L'APPAREIL URINAIRE

Nous avons vu que l'innocuité de l'hexylrésorcine et de l'heptylrésorcine avait été affirmée initialement par LEONARD (47 et 48) : chez le lapin, comme chez l'homme, après administration de doses assez importantes, répétées plusieurs jours de suite, cet auteur n'avait observé aucun trouble de l'activité fonctionnelle des reins, aucun élément anormal dans les urines. Cependant, en pratique, l'action irritante de l'hexylrésorcine et de ses homologues a représenté, dès leur apparition en clinique, un inconvénient non négligeable pour leur utilisation courante.

Ainsi que nous l'avons déjà dit dans la première partie de ce chapitre, nous avons toujours noté à l'autopsie des rats ayant succombé à des doses toxiques, une irritation intense des muqueuses digestives. Dans le cas des dérivés acétylés, essayés sur la souris, nous avons observé de même, une légère irritation des muqueuses, bien que l'un au moins de ces composés soit apparu nettement moins toxique que le dérivé non acétylé correspondant.

Il était donc tout à fait important de rechercher l'action irritante possible sur le rein au cours de l'élimination de tous ces composés.

Dans ce but, nous avons effectué systématiquement des recherches de l'albumine vraie et de la pseudo-albumine dans les urines de lapins ayant reçu une dose moyenne (0 gr. 25 par kgr.) et une dose forte (0 gr. 50 par kgr.) de chacun des corps essayés : pour chacun des corps et pour chaque dose, deux lapins au moins ont été éprouvés. Habituellement, cette recherche a porté sur l'urine du sondage préliminaire à l'administration, puis, autant que possible, sur les échantillons recueillis 4 heures, 8 heures et 24 heures après l'administration de l'antiseptique.

D'une façon générale, nous n'avons pas toujours obtenu des résultats bien concluants, parce que nous avons constaté, chez

quelques animaux, la présence de traces d'albumine antérieurement à toute absorption médicamenteuse.

Nous allons examiner successivement le cas des dérivés résorciniques simples et celui des dérivés résorciniques acétylés.

1^o DÉRIVÉS RÉSORCINIQUES SIMPLES.

A la dose de 0 gr. 25 par kilogramme, nous n'avons pas observé d'albumine urinaire vraie, mais seulement de la pseudo-albumine, avec l'hexylrésorcine et la méthylheptylrésorcine. Avec la cyclohexylrésorcine, les réactions ont été négatives au cours de deux essais, légèrement positives au cours d'un essai seulement. L'heptylrésorcine et l'éthylphénylrésorcine ont provoqué l'apparition de traces d'albumine dans les urines émises 4 heures et 8 heures après l'absorption.

A la dose de 0 gr. 50 par kilogramme, nous avons constaté, pour tous les composés essayés, la présence d'albumine vraie, tantôt nettement, tantôt à l'état de traces, 4 heures et 8 heures, et même 24 heures après l'absorption. La présence de pseudo-albumine a été notée presque constamment, mais souvent aussi, lors du sondage préliminaire, ce qui rend assez négligeable la valeur de cette indication.

2^o DÉRIVÉS RÉSORCINIQUES DIACÉTYLÉS.

A la dose de 0 gr. 25 par kilogramme, dose habituellement active vis-à-vis du colibacille, la diacétylheptylrésorcine et la diacétylcyclohexylrésorcine n'ont pas provoqué l'apparition d'albumine vraie dans les urines. Dans un seul essai, l'urine d'un lapin contenait des traces d'albumine 4 heures après l'ingestion de l'antiseptique.

A la dose de 0 gr. 50 par kilogramme, avec la diacétylheptylrésorcine, chez deux lapins en expérience, la présence d'albumine vraie a été constatée dans l'urine, dans un cas, 8 heures, dans l'autre 4 heures et 8 heures après l'ingestion.

Avec la diacétylcyclohexylrésorcine, chez les deux lapins en expérience, des traces d'albumine ont été constatées dans l'urine, dans un cas 4 heures, dans l'autre, 4 heures et 8 heures après l'ingestion.

En résumé, dans l'ensemble, avec l'hexylrésorcine et les autres

dérivés simples et acétylés, l'absorption par le lapin d'une forte dose (0 gr. 50 par kgr.) a toujours provoqué l'apparition de petites quantités d'albumine dans l'urine quelques heures après cette absorption.

L'absorption de quantités plus faibles (0 gr. 25 par kgr.) a provoqué l'apparition de traces d'albumine pour quelques dérivés résorciniques simples seulement.

Dans l'examen plus attentif des essais, l'action irritante sur le rein, assez nette, entre autres, dans le cas de l'hexylrésorcine et surtout de l'heptylrésorcine, nous a semblé plus atténuée dans le cas de la cyclohexylrésorcine.

Pour les deux dérivés acétylés, une légère action irritante sur le rein persiste à haute dose : elle semble plus petite pour la diacétylcyclohexylrésorcine que pour la diacétylheptylrésorcine. A doses faibles, encore actives, ces deux dérivés ne présentent qu'une action légère ou nulle sur le rein.

Symptômes observés au cours des essais du pouvoir antiseptique.

Il est utile de rapprocher de cette étude systématique de l'action toxique ou irritante, divers symptômes et accidents relevés au cours des essais du pouvoir antiseptique *in vivo*.

Nous avons observé, en effet, avec tous les dérivés résorciniques, quelques accidents légers à côté d'autres plus importants bien qu'isolés.

1° De la *diarrhée* a été observée chez plusieurs lapins, en particulier après l'ingestion de doses assez fortes de divers dérivés résorciniques simples et après des doses de 0 gr. 60 et 0 gr. 70 par kilogramme de diacétylcyclohexylrésorcine.

2° De l'*hématurie* a été constatée, au cours d'une dizaine d'essais, après l'absorption de l'un ou l'autre des différents dérivés en expérience. Mais nous n'avons pas toujours pu discerner si elle était d'origine chimique ou traumatique. En effet, si dans certains cas, des filets sanguins sont apparus dans l'urine après plusieurs prélèvements, dans d'autres cas, par contre, l'urine était nettement teintée en acajou. L'origine traumatique serait cependant assez plausible parce que nous avons quelquefois observé la présence de sang dans l'urine, à propos des autres antiseptiques étudiés.

3° La *mort*, précédée de diarrhée, est survenue, rarement d'ail-

leurs, pour quelques animaux, en particulier, 24 heures après l'ingestion d'une dose de 0 gr. 50 par kilogramme de méthylheptylrésorcine, et 24 heures et 48 heures après l'ingestion d'une dose de 1 gr. par kilogramme de diacétylheptylrésorcine.

En regard de ces quelques accidents, la grande majorité des animaux (au cours de plus de 150 essais), n'a présenté aucun symptôme d'intoxication ou d'irritation grave de l'intestin et des voies urinaires, même après absorption de doses assez élevées.

CONCLUSIONS DE L'ÉTUDE DES DÉRIVÉS RÉSORCINIQUES

A. — Dérivés résorciniques simples.

L'étude de l'action antiseptique *in vitro* et *in vivo*, de la toxicité générale et de l'action irritante, nous amène aux conclusions suivantes :

1° En ce qui concerne l'ACTION IN VITRO, les dérivés résorciniques se sont montrés des *antiseptiques relativement très actifs*. Dans l'ensemble ils sont capables, à des concentrations allant de 1/2.000 à 1/12.000, de tuer le colibacille, dans l'urine humaine, en 1 heure de contact, et, à des concentrations allant de 1/6.000 à 1/24.000, de tuer le staphylocoque doré, dans les mêmes conditions.

L'hexylrésorcine et l'heptylrésorcine, tous deux de même valeur, sont les plus actifs.

La cyclohexylrésorcine, la diéthyléthylrésorcine et l'éthylphénylrésorcine sont un peu moins actifs.

La méthylheptylrésorcine est beaucoup moins intéressante.

2° En ce qui concerne l'ACTION IN VIVO, dans l'urine du lapin, les dérivés résorciniques ont présenté des *variations selon le germe et selon la réaction de l'urine*.

Dans l'ensemble, des doses allant de 0 gr. 25 à 0 gr. 60 par kilogramme, administrées au lapin, *per os*, se sont montrées capables de rendre l'urine bactéricide vis-à-vis du colibacille et du staphylocoque doré.

L'hexylrésorcine, très active vis-à-vis du colibacille, et en urine acide, l'est nettement moins vis-à-vis du staphylocoque doré et en urine alcaline.

La cyclohexylrésorcine agit surtout bien en urine acide.

L'heptylrésorcine, la cyclopentylrésorcine et l'éthylphénylrésorcine ont une activité moins forte que les précédents, mais plus régulière et indépendante de la réaction de l'urine.

La diéthyléthylrésorcine n'agit que sur le colibacille.

La méthylheptylrésorcine est assez peu active.

3° En ce qui concerne la TOXICITÉ GÉNÉRALE déterminée sur le rat, par voie buccale, elle a varié de 1 gr. à 2 gr. par kilogramme.

L'heptylrésorcine, la cyclohexylrésorcine et la cyclopentylrésorcine nous ont paru un peu moins toxiques que l'hexylrésorcine, tandis que l'éthylphénylrésorcine et la méthylheptylrésorcine nous ont paru un peu plus toxiques.

4° En ce qui concerne l'ACTION IRRITANTE, les dérivés résorciniques se sont montrés légèrement irritants, mais cette action semble particulièrement faible pour la cyclopentylrésorcine.

En résumé, en considérant surtout l'action *in vivo*, la plus importante pratiquement :

Nous avons pu confirmer l'activité antiseptique très marquée de l'hexylrésorcine ; cependant, elle est surtout importante en urine acide et elle s'exerce sur le colibacille beaucoup plus que sur le staphylocoque doré.

L'heptylrésorcine s'est montrée sensiblement équivalente à l'hexylrésorcine : elle agit régulièrement et nous a paru un peu moins toxique.

La cyclohexylrésorcine, qui s'est montrée un peu moins toxique que l'hexylrésorcine, agit sensiblement de même *in vivo*.

L'éthylphénylrésorcine a présenté une activité antiseptique intéressante, mais elle serait un peu plus toxique que l'hexylrésorcine.

La diéthyléthylrésorcine a présenté une activité antiseptique *in vivo* assez régulière et surtout marquée vis-à-vis du colibacille.

La méthylheptylrésorcine nous a semblé, à tous points de vue, le dérivé le moins intéressant.

A notre avis, le dérivé le plus intéressant est la cyclopentylrésorcine. Elle est active *in vivo* aussi bien sur le colibacille que sur le staphylocoque doré, indépendamment de la réaction de l'urine, elle est un peu moins toxique que l'hexylrésorcine et semble le dérivé le moins irritant de la série.

B. — Dérivés résorciniques acétylés.

L'étude de l'action antiseptique *in vivo*, de la toxicité générale et de l'action irritante de deux dérivés résorciniques acétylés, nous fournit les conclusions suivantes :

1° En ce qui concerne l'ACTION ANTISEPTIQUE *IN VIVO*, dans l'urine du lapin, les deux dérivés acétylés se sont montrés actifs surtout vis-à-vis du colibacille.

Des doses de 0 gr. 25 de diacétylheptylrésorcine et des doses de 0 gr. 30 de diacétylcyclohexylrésorcine, administrées au lapin, *per os*, se sont montrées capables de rendre l'urine bactéricide vis-à-vis du colibacille. A ce titre, la diacétylheptylrésorcine paraît plus active que l'heptylrésorcine et que l'hexylrésorcine, la diacétylcyclohexylrésorcine paraît sensiblement équivalente à l'hexylrésorcine et à la cyclohexylrésorcine.

Les deux dérivés acétylés nous ont paru inférieurs vis-à-vis du staphylocoque doré et inactifs vis-à-vis de l'entérocoque.

2° En ce qui concerne la TOXICITÉ GÉNÉRALE, déterminée *per os* sur la souris, la diacétylheptylrésorcine s'est montrée moins toxique que l'heptylrésorcine ; la diacétylcyclohexylrésorcine et la cyclohexylrésorcine semblent présenter la même toxicité.

3° En ce qui concerne l'ACTION IRRITANTE, elle nous a paru faible pour la diacétylheptylrésorcine et presque nulle pour la diacétylcyclohexylrésorcine.

En résumé :

L'acétylation de l'heptylrésorcine nous semble produire une augmentation de l'activité bactéricide vis-à-vis du colibacille, une diminution de la toxicité générale et de l'action irritante.

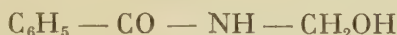
L'acétylation de la cyclohexylrésorcine ne modifie pas sensiblement, à notre avis, l'action bactéricide vis-à-vis du colibacille, de même que la toxicité générale ; elle semble, par contre, supprimer l'action irritante.

DEUXIÈME PARTIE

Etude de l'hexaméthylène tétramine et de deux composés susceptibles de libérer du formol.

L'hexaméthylène tétramine ou urotropine, antiseptique urinaire classique, nous a servi d'élément de comparaison pour l'étude de deux composés susceptibles, comme l'urotropine, de se décomposer facilement en libérant du formol :

méthylolbenzamide, répondant à la formule :



méthylène diuréthane, répondant à la formule :



Ces deux composés ont été préparés et mis à notre disposition par M. DELANGE.

Ils sont tous deux bien cristallisés et présentent les constantes suivantes :

	Point de fusion instantané
Méthylolbenzamide	113°
Méthylène diuréthane	138°

Le méthylolbenzamide est soluble dans l'eau, très soluble dans l'alcool et l'acétone, assez soluble dans l'éther, le chloroforme, les huiles végétales.

Le méthylène diuréthane est très faiblement soluble dans l'eau et dans les huiles, fortement soluble dans l'alcool, l'acétone, l'éther, le chloroforme.

Comme pour les dérivés résorciniques, nous avons recherché la valeur antiseptique *in vitro* et *in vivo* de ces composés et leur toxicité pour les animaux de laboratoire.

Dans un *premier chapitre*, consacré à l'étude de l'*action antiseptique*, nous exposerons :

1^o Les données bibliographiques sur la valeur antiseptique de l'hexaméthylène tétramine.

2^o Nos propres essais comprenant la détermination du pouvoir antiseptique *in vitro* du méthylolbenzamide et du méthylène diuréthane, comparativement à l'hexaméthylène tétramine et au formol lui-même, et la détermination du pouvoir antiseptique *in vivo*, chez le lapin, des deux nouveaux composés cités, comparativement à l'hexaméthylène tétramine.

Dans un *second chapitre*, consacré à l'étude de la *toxicité générale* et de l'*action irritante locale*, nous exposerons successivement les données bibliographiques concernant l'action toxique de l'hexaméthylène tétramine, puis les essais que nous avons effectués comparativement avec l'urotropine, le méthylolbenzamide et le méthylène diuréthane.

CHAPITRE I

Action antiseptique de l'hexaméthylène tétramine et de deux composés libérant du formol.

Données bibliographiques sur la valeur antiseptique de l'hexaméthylène tétramine.

L'hexaméthylène tétramine, découverte par BOUTLÉROW en 1860, a été préconisée en France, d'abord, et sans succès, par BORDET et TRILLAT, en 1894, comme dissolvant des urates. Étudiée ensuite en Allemagne par NICOLAÏER (146 et 147), elle fut proposée comme antiseptique urinaire dans ce pays, sous le nom d'urotropine. Ce médicament s'est répandu depuis dans tous les pays, sous des noms déposés variés (Formine, Urotropine, Urométine, Uroformine, Aminoforme, Cystamine, Cystogène, Métramine, Vésalvine, Uritone, Uroxamine, Hexaformine, Urisol, Uramine, Formotropine, Hexamine, Uropine) et a été inscrit en 1920 à la Pharmacopée française.

Les deux indications essentielles de l'urotropine sont en relation avec ses propriétés chimiques :

D'une part, l'hexaméthylène tétramine peut former avec les acides des combinaisons d'addition facilement solubles, d'où la possibilité de l'utiliser pour éliminer *in vivo* les dépôts d'acide urique.

D'autre part, et surtout, l'hexaméthylène tétramine se décompose dans certaines conditions, en ses deux constituants : formaldéhyde et NH_3 . Cette décomposition dépend de la concentration en ions H du milieu et de la température : elle se produit en milieu faiblement acide, elle est accélérée par la chaleur et est empêchée par les alcalis.

Toute l'utilisation de l'urotropine comme antiseptique, *in vitro* et *in vivo*, est basée sur cette libération de formol.

Enfin, l'hexaméthylène tétramine, introduite dans l'organisme par une voie quelconque, est très rapidement absorbée et éliminée essentiellement par les urines.

La détermination de la valeur antiseptique de l'hexaméthylène tétramine a amené les auteurs qui se sont occupés de cette question à examiner, comparativement, la valeur antiseptique du formol. C'est aussi celle-ci que nous allons d'abord considérer.

I. — VALEUR ANTISEPTIQUE DU FORMOL

D'après MOSSA et PALEOTTI (145), le formol, à des concentrations aussi faibles que 1/50.000 et 1/30.000, aurait déjà un effet antiseptique net bien que limité. Le terme « antiseptique » est cependant imprécis.

Pour BURNAM (92), le formol est fortement bactéricide, mais cette activité dépend du temps de contact : une concentration de 1/100 est bactéricide en 20 minutes, une concentration de 1/1.000, en 24 heures ; elle dépend aussi des germes : le staphylocoque est le plus résistant, le bacille typhique le moins. Une solution à 1/5.000 peut détruire le streptocoque et le bacille typhique en 24 heures.

HINMANN (127 et 128) constate que le formol est un germicide faible et surtout lent, et qu'il agit plutôt comme inhibiteur. Comme BURNAM, il observe de grandes variations selon les germes et selon les temps de contact. Le staphylocoque, le bacille typhique et le colibacille lui semblent les plus résistants, puis le pyocyanique et le streptocoque ; enfin, le bacille proteus, les bacilles diphtérique et pseudodiphtérique, le bacille subtilis et le bacille dysentérique sont moins résistants. Une concentration de 1/6.000 peut tuer le bacille typhique en 24 heures, une concentration de 1/16.000 produit une inhibition complète ; à 1/30.000, la croissance est restreinte et à 1/40.000, il n'y a pas d'effet apparent. Le colibacille, moins sensible, peut être tué par le formol à 1/5.000 si le temps de contact est supérieur à 2 heures et par le formol à 1/10.000 si le contact est suffisamment prolongé.

HINMANN conclut, qu'en moyenne, le formol agit comme anti-

septique à la concentration de 1/30.000 et comme germicide à la concentration de 1/6.000.

C'est donc surtout un antiseptique inhibiteur, mais sa valeur germicide est assez réduite.

II. — VALEUR ANTISEPTIQUE DE L'HEXAMÉTHYLÈNE TÉTRAMINE *IN VITRO*

Il semble bien que l'hexaméthylène tétramine, par elle-même, ne soit pas du tout antiseptique (OHIRA (149)). Tant qu'on empêche sa décomposition avec libération du formol, en maintenant la réaction légèrement alcaline, on ne peut observer d'action antiseptique. C'est ce qu'ont constaté HANZLIK et COLLINS (124), JORDAN (131), BURNAM (92), BUZELLO (93), SHOHL et DEMING (167).

D'après JORDAN, une concentration de 5 % d'urotropine serait nécessaire pour arrêter la croissance du staphylocoque dans un bouillon de culture neutre, et encore, cette action pourrait être attribuée à une petite quantité de formaldéhyde libre.

BURNAM n'a pas constaté d'action bactéricide même avec une solution à 10 %.

Tandis qu'ils trouvaient, avec le formol, une limite d'activité aux concentrations de 1/10.000 à 1/5.000 pour la majorité des germes, HANZLIK et COLLINS constatent qu'une solution d'urotropine au 1/50, en présence de NH_3 pour empêcher le dégagement de formaldéhyde, n'inhibe pas la croissance des bactéries étudiées (staphylocoque, bacille typhique) dans divers milieux : bouillon, ascite, liquide pleural. DUTHOIT (109) au contraire attribue à l'hexaméthylène tétramine une valeur antiseptique propre et assez marquée. En milieu de Ringer, une concentration de 2 % d'hexaméthylène tétramine (donc au 1/50 comme celle utilisée par HANZLIK et COLLINS) peut tuer différents germes en 4 à 10 jours selon les espèces : les bacilles typhique et paratyphique sont les plus sensibles, le colibacille et le pneumobacille sont les plus résistants. En bouillon, la croissance du bacille typhique et des paratyphiques est nettement empêchée avec 1 ‰ d'hexaméthylène tétramine ; elle est arrêtée complètement avec 2 ‰ ; celle de l'entérocoque et du staphylocoque, gênée avec 1 ‰, est arrêtée avec 3 ‰ ; celle du pneumobacille

est gênée avec 4 ‰ et arrêtée complètement avec 8 ‰. Le colibacille se montre beaucoup plus résistant : il faut une concentration de 1,5 % pour produire une gêne, et 2,5 % pour arrêter toute culture.

Dans un milieu légèrement alcalinisé (par addition ménagée de carbonate de sodium) les résultats sont analogues, sauf pour le colibacille.

DUTHOIT en conclut que la valeur antiseptique de l'hexaméthylène tétramine ne proviendrait pas d'une libération de formol, qu'il n'a pu déceler dans les milieux d'expériences qu'à un taux au plus égal à 1/100.000 ; et il envisage la possibilité d'une action désinfectante même dans les milieux alcalins de l'organisme.

GAROFEANU et IOAN (117), MILANESI (143) reconnaissent aussi à l'urotropine une action bactéricide non négligeable, quoique non comparable à celle des antiseptiques forts, et caractérisée surtout par la grande importance du temps d'action.

En somme, on retrouve ici le caractère de « germicide lent » attribué par HINMANN au formaldéhyde.

Quelle que soit la valeur exacte de l'urotropine comme antiseptique *in vitro*, retenons que le colibacille est assez peu sensible. CALISTI (94), frappé par cette résistance, a envisagé une technique d'isolement du colibacille dans l'eau, par l'emploi de milieux additionnés d'urotropine. De même, pour différencier les bactéries des eaux, WILSON (179) propose un milieu sélectif à base d'hexaméthylène tétramine, qui inhiberait la croissance des espèces du genre *Aerobacter* et permettrait la croissance des espèces du genre *Escherichia* ; cependant POE et WILLIAMSON (153) ont retrouvé une sensibilité inverses de ces espèces, outre quelques inconvénients qui rendent la technique de WILSON peu praticable.

Quoi qu'il en soit, l'hexaméthylène tétramine, en l'absence de toute décomposition, *in vitro*, est un antiseptique assez doux.

III. — ACTION DE L'HEXAMÉTHYLÈNE TÉTRAMINE IN VIVO

Avant de voir quelle peut être l'action antiseptique de l'hexaméthylène tétramine *in vivo*, voyons d'abord comment se com-

porte ce composé dans l'organisme, c'est-à-dire l'absorption et l'élimination de l'hexaméthylène tétramine elle-même, puis sa décomposition en formaldéhyde au cours de son passage dans l'organisme.

a) *Absorption et élimination de l'hexaméthylène tétramine dans l'organisme.*

L'hexaméthylène tétramine, introduite dans l'organisme par une voie quelconque, est très rapidement absorbée et éliminée.

α) *Absorption.* — Chez le chien, injectée dans une anse de l'intestin grêle, elle apparaît dans le sang en l'espace de 3 à 5 minutes (HANZLIK et COLLINS) (124).

Chez le lapin, sa présence a pu être constatée dans le sérum de l'animal 15 minutes après l'administration buccale de 0 gr. 50 (CROWE) (104).

Chez l'homme, après administration buccale, la concentration maximum dans le sang est atteinte après 5 à 8 heures, d'après CROWE, et le médicament peut demeurer dans la circulation sanguine pendant 24 heures ; HALD (121) a noté (probablement après injection) une concentration maximum de 1/8.000, obtenue en 45 minutes environ.

β) *Élimination.* — L'élimination de l'hexaméthylène tétramine se fait par les urines principalement et par les diverses sécrétions.

Temps d'élimination. — Le passage très rapide dans les urines, rapporté d'abord par NICOLAÏER (147), commence à se produire quelques minutes après l'administration. Chez le chien (HANZLIK et COLLINS) (124) l'élimination débute 7 minutes après l'injection, mais elle se fait assez lentement chez cet animal, et après administration de doses assez fortes, l'urine peut encore contenir de l'hexaméthylène tétramine après 24 ou 36 heures (NICOLAÏER (147), SCHMIDT (162)).

Chez l'homme, l'urotropine peut apparaître dans l'urine déjà 11 minutes après l'administration orale, rectale, hypodermique ou intraveineuse. La voie intraveineuse, surtout, assure une très rapide élimination (CAUBET (98), ALBANO (84)) : elle atteint son maximum en 1 à 3 heures, elle cesse pratiquement en 4 à 8 heures

selon la dose administrée. D'après FALK et SUGIURA (112), après administration buccale de doses de 1 gramme environ, l'élimination est le plus souvent terminée après 12-14 heures. Si la dose ingérée est forte, l'élimination peut s'étendre à 40 heures et même plus (ROMANI et BOSMIN (156)).

Enfin, HANZLIK et DE EDS (125) donnent un temps d'excrétion de 20 à 23 heures environ avec 5 grammes.

Taux de l'élimination. — L'élimination quantitative a été surtout étudiée par FALK et SUGIURA (112) ainsi que par COLLINS et HANZLIK (103) qui, utilisant des réactifs différents, sont arrivés à des résultats analogues.

Chez l'homme, après administration de doses de 1 à 5 grammes, la quantité d'hexaméthylène tétramine retrouvée dans l'urine varie entre 32 et 85 pour cent.

Le *taux de l'élimination* est indépendant du dosage, de l'absorption de liquide et de la diurèse (RUH et HANZLIK (157)). Il dépend principalement de la réaction que l'urotropine rencontre dans les voies digestives : en neutralisant l'acidité stomacale par administration préalable de bicarbonate de sodium, on peut retrouver dans l'urine 100 % de la quantité administrée (HANZLIK et DE EDS (125)).

La *concentration* de l'hexaméthylène tétramine dans l'urine dépend de la dose, du temps, de l'ingestion de liquide et de la fonction rénale. FALK et SUGIURA (112) ont constaté que plus le poids spécifique de l'urine est bas et plus grande est la quantité d'urotropine excrétée.

Chez l'homme, avec administration continue de 0 gr. 67, 3 fois par jour, la concentration dans l'urine varie de 1/1.400 à 1/2.800 ; pour des doses de 0 gr. 33, elle varie de 1/2.100 à 1/14.000. Dans le cas de lésion rénale, l'hexaméthylène tétramine est excrétée en quantités très petites.

γ) *Répartition dans l'organisme et élimination par les diverses sécrétions autres que l'urine.* — L'hexaméthylène tétramine, répandue très rapidement dans tous les tissus et humeurs, s'élimine par toutes les sécrétions aussi rapidement que par l'urine, à des concentrations variables et probablement plus basses.

Le passage de l'hexaméthylène tétramine dans le liquide céphalo-rachidien a été observé, chez le chien, où un maximum est

atteint en 1/2 heure à 1 heure après administration intraveineuse (CROWE (104)), et chez l'homme (HANZLIK et COLLINS (124)) où la concentration peut atteindre 1/20.000 après absorption de doses thérapeutiques. La concentration dans le liquide céphalorachidien ne représente que la moitié environ de celle présente simultanément dans le sérum (HALD (121)).

L'excrétion dans la salive, dans la bile, dans le suc pancréatique, a été constatée chez le chien comme chez l'homme (CROWE 104), HANZLIK (123), BURNAM (92), HINMANN (128)). Dans la bile, la concentration en urotropine serait assez élevée après administration de fortes doses (CROWE (104)); DUTHOIT (110) a retrouvé ainsi, de 0 gr. 161 à 0 gr. 511 % chez un chien de 10 kilos après injection intraveineuse de 2 gr. 50 d'urotropine.

Dans le lait, la présence d'hexaméthylène tétramine a été signalée par BUCURA (91) et confirmée par CROWE (104), SCHMID et SCHROETER (161), RIEDER (155). Ce dernier trouva une concentration maximum après 1 heure. HANZLIK et COLLINS (124) l'ont retrouvée dans les liquides péricardial, pleural et synovial, ZAK (182), GRADLE (119), REMELE (154) dans l'humeur aqueuse et dans l'humeur vitrée.

Enfin, DUPUY DE FRÉNELLE et PAYCHÈRE (108) ont constaté le passage de l'urotropine dans l'urine de blessés traités par des pansements humides effectués avec une solution d'urotropine, de même que son passage dans le pus des plaies après administration buccale.

L'urotropine représente donc un médicament très facilement diffusible et éliminable. Mais son action antiseptique *in vivo* est considérée comme inséparable de sa décomposition avec libération de formol. Voyons comment peut se produire cette décomposition et les faits qui la confirment. Ils nous permettront d'estimer la valeur antiseptique qu'on peut attendre de l'urotropine dans la désinfection urinaire et dans la désinfection générale.

b) *Libération de formaldéhyde dans l'organisme.*

La quantité d'hexaméthylène tétramine qui peut être décomposée avec libération de formaldéhyde, à la température du corps, est fonction du pH du milieu et du temps (JORDAN (131), HANZLIK et COLLINS (124), TRENDELENBURG (173 et 174), DE EDS (111)). TRENDELENBURG (174), en particulier, établit qu'une solu-

tion acide correspondant à une solution de SO_4H_2 N/10, laissée en contact, pendant 1 heure et à 38°, avec de l'hexaméthylène tétramine, peut en décomposer 80 % avec libération de formol. Ses essais, transposés *in vivo*, s'expriment ainsi :

A pH	Equivalent à	Pourcentage d'urotropine hydrolysée en formol. en solution aqueuse	
		En 2 heures	En 6 heures
2 à 1	suc gastrique	60	100
5	acidité maximum de l'urine	25	35
6,8	sang veineux	0,8	1,0
7,2	sang normal	0,35	0,8
9			0

Ceci indique que l'urotropine peut être décomposée en grande partie dans l'estomac et partiellement dans l'urine acide ; dans le sang et dans les tissus, la décomposition serait tout à fait négligeable.

Deux réactions très sensibles, la réaction de RIMINI (phénylhydrazine et nitroprussiate) dont la limite est de 1/1.000.000, et surtout celle de JORISSEN modifiée par VANINO (phloroglucine et soude) dont la limite est de 1/10.000.000 ont permis la caractérisation du formol dans les milieux de l'organisme.

Pratiquement, le formol a pu être décelé en quantité notable uniquement dans le suc gastrique et dans l'urine. Après administration d'urotropine, le formol peut être, en effet, libéré dans l'estomac (HANZLIK et COLLINS (124)) mais il échappe à l'absorption, soit qu'il soit fixé par les amino-acides, soit qu'il soit totalement oxydé en acide formique.

Malgré des expériences très soigneuses, la présence de formol n'a pu être décelée ni dans le sérum, ni dans le dialysat du sang, ni dans le liquide céphalorachidien et les diverses humeurs et sécrétions où l'urotropine a été constatée (HANZLIK et COLLINS (124), VINDEVOGEL (175), MAC GUIGAN et HESS (140), VOIT (176), DE EDS (111), SCHMID et SCHROETER (161)).

Les traces de formol qui peuvent être libérées seraient fixées par les protéines ou oxydées en acide formique.

Cette absence, ou cette non persistance du formol, ressort aussi des expériences de LOEB (138) qui, après un traitement de lapins, pendant plusieurs semaines, avec l'hexaméthylène tétramine,

n'a pas réussi à établir des altérations de l'aorte, typiques pour l'intoxication chronique par le formol.

Dans l'urine, milieu tamponné et où l'acidité reste relativement faible, la libération de formol a été le sujet de vives discussions.

Si quelques auteurs, tels SALKOWSKI (160), GAUCHER et BERCOVICI (118), nient la libération de formaldéhyde en quantité notable dans l'urine, elle a été affirmée, par contre, d'abord par NICOLAÏER (146), puis par HANZLIK et COLLINS (124), BURNAM (92), SMITH (169), HINMANN (127), JENNESS (130), TRENDLENBURG (173), BARTELT (85), DAVIS (106).

En réalité, et c'est ce qu'ont observé la plupart de ces auteurs, la décomposition n'a lieu que dans les urines acides, elle est nulle dans les urines alcalines. On peut la faciliter par l'ingestion de certains corps acidifiants, tels le phosphate acide de sodium.

Outre la réaction de l'urine, la dose d'hexaméthylène tétramine absorbée influe sur la libération du formol. L'ESPÉRANCE (136), SMITH (169), JENNESS (130), trouvèrent du formol dans 20 à 95 % des cas, suivant la dose ingérée. BURNAM (92) insiste sur la question des doses : le formol est souvent absent de l'urine après de petites doses d'urotropine, mais, après de fortes doses, la concentration en formaldéhyde libre peut excéder 1/5.000.

HINMANN (129) a essayé de doser le formol dans la vessie de malades qui prenaient 0 gr. 90 d'hexaméthylène tétramine 3 fois par jour, en même temps que du phosphate acide de sodium. Dans 4 % des cas seulement, il ne trouva pas de formol, et dans 20 % des cas, la concentration atteignit 1/7.000.

D'après FOURNEAU et BOVET (115), après l'injection d'une solution d'urotropine à 40 %, la quantité de formol libre, dans les urines, ne dépasserait pas 1/10.000 dans les conditions les plus favorables. Pour obtenir dans l'urine des concentrations plus élevées, il faut administrer de très fortes doses et produire une augmentation d'acidité, ce qui risque de mettre en jeu l'action toxique du formol.

BURNAM (92) croyait que cette libération de formol commence dans le rein et qu'elle est due à l'activité de l'épithélium rénal ; elle augmente dans la vessie (HINMANN (128), SOLLMANN (170)).

Actuellement, il est à peu près certain que le formol mis en évidence dans l'urine, provient d'une décomposition s'effectuant seulement dans la vessie. En effet, si le formol, introduit direc-

tement dans la circulation en quantité non toxique, peut passer dans l'urine et y réaliser une concentration de 1/5.000 (FOURNEAU (115)), par contre, lorsqu'il est ingéré en nature, il n'arrive pour ainsi dire pas dans la vessie. Ainsi, HINMANN (128) a administré une solution de formol à 1/5.000, par voie buccale, à raison de 180 cm³ toutes les 3 heures ; il n'a pu obtenir dans l'urine une concentration supérieure à 1/20.000 et quelquefois même, rien de décelable.

Ainsi que le rapporte FOURNEAU (115), des examens séparés ont montré qu'il n'y a pas de formol dans l'urine des bassinets, mais seulement dans l'urine de la vessie.

On ne peut donc espérer une action antiseptique au niveau des reins.

c) Désinfection urinaire par l'hexaméthylène tétramine.

Bien que certains auteurs, dont LOEPER (139), attribuent l'action antiseptique à l'urotropine en nature, pour la majorité des auteurs, le pouvoir antiseptique de l'urine après administration d'urotropine est dû à la présence de formol libre.

Ainsi que nous venons de le voir, les concentrations de formol libre observées dans l'urine après administration de doses thérapeutiques d'urotropine, restent assez faibles et le plus souvent inférieures aux concentrations de formol données comme germicides pour le colibacille *in vitro*. De plus, cette action germicide demande un temps de contact assez long qu'on ne peut obtenir dans l'urine qu'en cas de rétention anormale.

Cependant, l'action antiseptique dans l'urine a été rapportée à plusieurs reprises et ne peut être mise en doute au moins dans certaines conditions.

CHURCHMANN (101) affirmait que l'urine émise après administration d'urotropine pouvait agir contre le bacille typhique et le streptocoque pyogène, et, à un faible degré, contre le staphylocoque doré.

HINMANN (129) fit l'évaluation, simultanément, de la quantité de formol libre et du pouvoir antiseptique dans les urines recueillies chez des malades qui absorbaient 0 gr. 90 d'urotropine, 3 fois par jour. Sur 318 cas étudiés, 36 % des urines examinées, surtout des urines acides, présentaient un pouvoir nettement antiseptique, et 64 % contenaient trop peu de formol pour produire

une action germicide proprement dite, mais seulement une légère action inhibitrice.

Après administration de doses thérapeutiques moyennes (0 gr. 45, 3 fois par jour), les concentrations de formol obtenues dans l'urine seraient insuffisantes d'après LÉVY et STRAUSS (137) pour tuer le colibacille (qui est détruit *in vitro* par 1/5.000 de formol) et pourraient seulement tuer le bacille typhique, germe très sensible.

Ce sont des résultats beaucoup plus affirmatifs que rapportent DAVIS et SHARPE (106). Sans se préoccuper de doser le formol, ces auteurs ont recherché, chez 12 adultes normaux, le pouvoir antiseptique de l'urine prélevée par sondage 2 heures, 4 heures et 8 heures après l'absorption d'une dose de 1 gramme d'hexaméthylène tétramine, sans administration préalable d'un médicament acidifiant. Cinquante pour cent des échantillons prélevés après 2 heures et soixante-quinze pour cent des échantillons prélevés après 4 heures et 8 heures présentaient une action très marquée, germicide aussi bien qu'antiseptique, contre le bacille coli et le streptocoque. Ils conclurent que l'urotropine est un antiseptique urinaire tout à fait efficace et supérieur, en particulier, au pyridium et à l'hexylrésorcine.

DAVIS a confirmé ultérieurement (106) que l'absorption d'urotropine, surtout lorsqu'elle est accompagnée d'absorption de nitrate ou de chlorure d'ammonium, confère à l'urine une valeur antiseptique étonnante contre le colibacille et le staphylocoque.

A l'heure actuelle, ainsi que l'exprimait en 1935 FOURNEAU (115) : « la plupart des auteurs sont d'accord pour admettre que l'injection ou l'absorption d'urotropine rend très souvent les urines bactéricides, cela, sans préjuger l'absence ou la présence de formol libre ou faiblement combiné ».

d) Conditions de la désinfection urinaire par l'hexaméthylène tétramine.

L'exposé très clair fait par HINMANN en 1913 (127) conserve encore toute sa valeur et nous ne pouvons que le résumer ici.

L'action antiseptique de l'urotropine par son excrétion dans l'urine est influencée par deux sortes de facteurs : ceux qui affectent son excrétion, ceux qui affectent sa décomposition.

1° L'excrétion elle-même dépend des doses administrées et des

changements qui peuvent se produire dans les voies digestives ; d'où la première règle dans cette thérapeutique, qui est d'éviter l'action de l'acidité gastrique.

2° La quantité de formaldéhyde libérée dépend de l'acidité urinaire, du temps d'exposition à l'influence de cette acidité et de la concentration de l'urotropine dans l'urine au moment de son excrétion. La seconde règle essentielle est donc d'obtenir une urine acide.

HINMANN réclame une acidité supérieure à celle qui est saturée par 2 cm³ de soude N/10 pour 10 cm³ d'urine. Il recommande d'augmenter l'acidité de l'urine par l'ingestion de certains médicaments tels que le phosphate acide de sodium, l'acide borique, l'acide benzoïque, l'acide salicylique, que l'on peut administrer alternativement.

A la suite d'HINMANN, KLEEGER (132), puis HELMOLTZ (126), WALTHER (177) ont insisté sur les conditions physico-chimiques de la désinfection urinaire. HELMOLTZ prévient que le traitement avec l'urotropine sans contrôle constant de la concentration en ions H de l'urine est voué à l'insuccès. WALTHER, d'accord avec cet auteur, réclame un pH inférieur à 5,6 pour obtenir une quantité suffisante de formol libre.

Outre l'acidité, l'importance du temps de contact dans l'urine est bien prouvée. Une action plus nette a été notée dans le cas de rétention urinaire. L'administration de diurétiques et l'absorption exagérée de liquides n'est généralement pas recommandée (YOUNG (181)). D'ailleurs, l'action diurétique de l'urotropine, affirmée par NICOLAÏER (147), puis soutenue, entre autres, par ROMANI et BOSMIN (156), est contestée par beaucoup d'auteurs (RUH et HANZLIK (157), CHEINISSE (99), SAAD (84), ALBANO (84), BLANC (86), LOEPER (139)).

Finalement, la valeur antiseptique de l'hexaméthylène tétramine est évidemment très diminuée par la nécessité de ces conditions rigoureuses. C'est ce qui amenait HINMANN à conclure (129) que l'hexaméthylène tétramine, qui n'agit pas au niveau des reins, présente surtout une valeur comme agent prophylactique dans la vessie.

Il n'en est pas moins vrai que l'urotropine a fait ses preuves dans la thérapeutique des infections urinaires depuis de longues années et que son utilité demeure parfaitement justifiée dans ce domaine.

Pratiquement, l'hexaméthylène tétramine est administrée couramment par voie buccale (cachets ou comprimés) à des doses moyennes de 1 à 3 grammes par jour, pouvant aller jusqu'à 6 grammes (YOUNG (181)). La voie rectale et surtout la voie veineuse ont été de plus en plus employées, celle-ci aux doses de 5 à 10 cm³ d'une solution contenant 0 gr. 30 d'urotropine par centimètre cube (formule isotonique de YMAZ et AYERZA) (180). La voie endoveineuse, préconisée par LOEPER dès 1917 (139), dans l'antisepsie générale aussi bien que dans l'antisepsie locale, serait pour quelques auteurs, dont BLANC (86), inutile et même dangereuse.

En médecine vétérinaire, l'urotropine est utilisée comme antiseptique urinaire, chez le chien, le cheval et le bœuf (LEBEAU et COURTOIS (133)).

e) *Désinfection générale par l'hexaméthylène tétramine.*

Nous n'insisterons guère sur l'emploi de l'hexaméthylène tétramine comme antiseptique général, emploi basé sur les croyances des premiers chercheurs en un dégagement de formaldéhyde à l'intérieur de l'organisme.

Malgré les expériences négatives à ce sujet (en particulier celles de HANZLIK et COLLINS (124) et de HINMANN (128)), quelques résultats cependant sembleraient justifier une action désinfectante dans les tissus.

Ainsi CROWE (104), en traitant par de fortes doses d'hexaméthylène tétramine des chiens infectés par voie subdurale avec des streptocoques virulents, observa une survie notable des animaux traités et même quelques survies définitives. De même CANGHEM (95) a réussi, au moyen d'un traitement par l'hexaméthylène tétramine, à réduire de 60 à 14 % la mortalité de chiens infectés par la même voie avec des streptocoques.

D'après FLEXNER et CLARK (114), la polyomyélite du singe serait favorablement influencée par un traitement prophylactique et thérapeutique avec l'hexaméthylène tétramine.

Enfin, d'après BUZZELLO (93), le sang veineux prélevé chez l'homme après injection d'urotropine inhiberait ou au moins affaiblirait le développement des bactéries. DUTHOIT (110), de même que CROWE (104), pensait qu'on pouvait attendre une action antiseptique importante dans la bile vésiculaire après l'in-

jection intraveineuse d'urotropine. SHERIF (166) envisageait une action favorable dans des infections oculaires, étant donné le passage de l'antiseptique dans les humeurs de l'œil.

C'est en se basant sur de tels faits qu'on a administré de fortes doses d'hexaméthylène tétramine contre les infections des voies biliaires et respiratoires et contre les infections des méninges. Cependant, des examens minutieux n'ont pu révéler aucune action antiseptique dans ces cas (voies biliaires, BURNAM (92) ; paralysie infantile, FRASER (116) ; empyèmes, SHATTUCK (165)).

A titre antiseptique encore, l'urotropine a été recommandée contre la grippe (MILLER (144)).

C'est par une modification de la perméabilité méningée, après injection intraveineuse, que l'hexaméthylène tétramine pourrait agir favorablement par association avec le sérum antitoxique dans le traitement du tétanos (OUVRY (151)).

De même, diverses indications de l'urotropine ne sont pas en rapport avec une action antiseptique. Ainsi, l'urotropine a été préconisée, en injection intraveineuse, contre la rétention d'urine post-opératoire (CHEINISSE) (100) et associée à l'acide cholique, comme dissolvant de la cholestérine, dans le traitement de la lithiase biliaire (LECCIA) (134).

L'association avec des arsenicaux (arsénobenzol et néo-arsénobenzol) diminuerait leur toxicité sans diminuer leur activité (MACHADO) (141). L'hexaméthylène tétramine serait le contre-poison de choix des phénols (BOUCHEREAU) (88) ; elle pourrait neutraliser le sulfure d'éthyle dichloré (BRUÈRE et BOUCHEREAU) (90).

Les premiers auteurs qui ont étudié l'hexaméthylène tétramine (BARDET et TRILLAT, NICOLAÏER) (146) l'avaient proposée comme dissolvant de l'acide urique dans le traitement de la goutte. En réalité, l'action dissolvante est très légère et elle est due surtout au formaldéhyde qui peut être libéré. L'hexaméthylène tétramine elle-même ne serait pas capable d'éliminer *in vivo* les dépôts d'acide urique (ORLOWSKI) (150), BORUTTEAU (87), HANZLIK (123), SCHROEDER (163)). En clinique, les résultats ont été d'ailleurs décevants.

IV. — DÉRIVÉS DE L'HEXAMÉTHYLÈNE TÉTRAMINE

De nombreux dérivés de l'hexaméthylène tétramine, préparés par les chimistes, ont été introduits en thérapeutique comme antiseptiques urinaires ou comme antiseptiques généraux. Ils résultent de la facilité de combinaison de l'urotropine avec les acides, les sels, les éthers sels, les phénols. Ce sont, parfois de véritables combinaisons cristallisées, les uns et les autres étant susceptibles de libérer du formol.

Parmi les combinaisons obtenues avec les acides (phosphate, salicylate, acétylsalicylate, quinate, etc... d'hexaméthylène tétramine), un composé tel que l'Helmitol ou anhydrométhylène citrate d'hexaméthylène tétramine (NICOLAIER) (148), présente l'intérêt de pouvoir libérer du formol par ses deux constituants, et indépendamment de la réaction de l'urine (KLEEBOERG) (132). L'association avec l'acide camphorique (Amphotropine), aurait pour but d'empêcher une action nocive de l'urotropine sur le cœur (de même que des associations avec le camphre et avec la caféine).

Parmi les combinaisons obtenues avec les éthers sels, l'iodobenzylate d'hexaméthylène tétramine ou Iodaseptine, l'iodobenzylate de diformine ou Septicémine sont des antiseptiques généraux énergiques (LOEPER) (139) agissant par leurs deux constituants. Les iodoalcoylates d'hexaméthylène tétramine (iodométhylate et surtout iodoéthanolate) ont été particulièrement bien étudiés et leur pouvoir bactéricide *in vitro* et *in vivo* a été confirmé par BOVET et M^{lle} DEMANCHE (89), DÉTRIE (107), TOUSSAINT, VÉRAIN et GOETZ (172) : ce seraient des antiseptiques urinaires importants, leur activité étant indépendante de la réaction de l'urine, et aussi des antiseptiques généraux (HAMEL) (122).

ESSAIS PERSONNELS

Nous avons étudié l'action antiseptique *in vitro* et *in vivo* du méthylolbenzamide et du méthylène diuréthane comparative-ment à l'hexaméthylène tétramine et, pour l'essai *in vitro*, comparative-ment au formol.

I. — ÉTUDE DE L'ACTION ANTISEPTIQUE *IN VITRO*

La valeur antiseptique *in vitro* du méthylolbenzamide et du méthylène diuréthane a été estimée comparativement à l'hexaméthylène tétramine et au formol.

De même que pour les dérivés résorciniques, cette étude a comporté :

1° La *détermination du pouvoir antigénétique* et du *pouvoir antibiotique*, dans des conditions permettant la comparaison des deux mesures.

2° La *détermination du pouvoir antibiotique en urine humaine*.

Ainsi que nous l'avons vu dans la première partie de ce travail, le *pouvoir antigénétique* et le *pouvoir antibiotique* s'expriment respectivement par la dose antigénétique et la dose antibiotique.

La *dose antigénétique* d'une substance est la quantité de cette substance qu'il faut ajouter à un litre d'un bouillon de culture pour y empêcher le développement des germes qui y sont ensemencés à raison de 10 millions par centimètre cube.

La *dose antibiotique* d'une substance est la quantité de cette substance qu'il faut ajouter à un litre d'un milieu quelconque pour tuer, en 15 minutes, une quantité de germes fixée à 500 millions par centimètre cube.

Le *pouvoir bactéricide*, en *urine humaine*, s'exprime par la dilution maxima de chaque substance essayée, capable de tuer les germes dans ce milieu.

Ces diverses déterminations ont été effectuées vis-à-vis du colibacille et vis-à-vis du staphylocoque doré.

Après le rappel des techniques utilisées, nous donnerons les résultats de nos essais.

A. — Techniques utilisées.

Ce sont celles que nous avons appliquées à l'étude des dérivés de la résorcine et dont nous avons donné le détail à ce propos (p. 42).

Nous n'exposerons pas à nouveau le détail de ces techniques et allons simplement donner le schéma d'un essai pour chacune de ces déterminations.

1^o SCHÉMA D'UN ÉSSAI ANTIGÉNÉTIQUE ET ANTIBIOTIQUE.

Soit, comme exemple, un des essais définitifs du pouvoir antigénétique et du pouvoir antibiotique du méthylolbenzamide, vis-à-vis du colibacille.

Un tel essai comporte :

- la numération des germes,
- la détermination de la dose antigénétique,
- la détermination de la dose antibiotique.

a) *Numération des germes.*

La suspension de cellules-levures utilisée, dénombrée à l'hématimètre de Malassez, titrait 211 millions de cellules-levures par centimètre cube.

A 2 cm³ de cette suspension a été ajouté 1/10 de cm³ d'émulsion bactérienne (colibacilles). La numération comparative du mélange, effectuée au microscope, après étalement et coloration, sur plusieurs lames, a donné 369 bactéries pour 587 cellules-levures.

Le titre de l'émulsion bactérienne était donc :

$$X = \frac{2}{0,1} \times \frac{369}{587} \times 211 = 4.023 \text{ millions par cm}^3.$$

Pour l'essai antibiotique, nécessitant l'introduction de 500 millions de germes par centimètre cube (soit 5 milliards pour 10 cm³), nous avons prélevé :

$$\frac{1 \times 5.000}{4.023} = 1,2 \text{ cm}^3 \text{ de l'émulsion bactérienne.}$$

Pour l'essai antigénétique, nécessitant l'introduction de 10 millions de germes par centimètre cube (soit 50 millions pour 5 cm³), nous avons fait une dilution au 1/20 de l'émulsion bactérienne et avons prélevé 0,25 cm³ de cette dilution.

b) *Essai antigénétique en bouillon.*

Une solution aqueuse de méthylolbenzamide à 2 % était préparée. Dans 10 tubes stériles, les différents éléments de l'essai

La dernière subculture positive provenait du tube renfermant 8 cm³ de la solution de méthylolbenzamide, la première subculture négative provenait du tube renfermant 8,5 cm³ de la solution antiseptique.

La dose antibiotique s'exprimera donc par :

$$\frac{(8 + 8,5)}{2} \times 100 = 825 \text{ cm}^3 \text{ de la solution à 2 pour cent, soit } 16 \text{ gr. 50 de méthylolbenzamide.}$$

2° SCHÉMA D'UN ESSAI DU POUVOIR BACTÉRICIDE, EN URINE HUMAINE.

Soit la détermination de la dilution maxima de méthylolbenzamide, capable de détruire le staphylocoque doré, en urine humaine.

L'urine utilisée présentait un pH égal à 6,2.

A partir d'une solution mère, dans l'urine, de méthylolbenzamide à 2 % (1/50), des dilutions croissantes étaient préparées, jusqu'à 1/1.000.

Dans une série de tubes à essai stériles était placé 1 cm³ de chaque dilution et, dans un tube témoin, 1 cm³ de l'urine pure. Une anse d'une culture, en bouillon, de staphylocoques, âgée de 24 heures, était introduite dans chaque tube.

Les subcultures, effectuées pour chaque tube 1 heure et 24 heures après la mise en contact avec les germes, ont donné les résultats suivants :

Dilutions de méthylolbenzamide dans l'urine.

Résultats des subcultures	Urine témoin	1/50	1/75	1/100	1/200	1/300	1/400	1/500	1/1000
Après 1 h.	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Après 24 h.	+	0	0	0	0	0	+	+	+

+ = subcultures positives

0 = subcultures négatives

Ainsi, la dilution au 1/50 de méthylolbenzamide dans l'urine humaine n'est pas capable de tuer le staphylocoque doré en 1 heure ; la dilution au 1/300, dans l'urine, est capable de tuer le staphylocoque doré en 24 heures.

B. — Résultats des essais *in vitro*.

Nous avons fait à propos de l'étude des dérivés résorciniques quelques remarques qui s'appliquent encore ici.

Rappelons d'abord que les chiffres des résultats représentent la moyenne de 2 à 3 essais définitifs après un ou plusieurs essais préliminaires.

Enfin, les doses antibiotiques et antigénétiques et les dilutions maxima bactéricides dans l'urine n'ont pas toujours pu être établies avec précision, la solubilité des corps à l'essai étant souvent insuffisante pour atteindre la zone d'activité. Dans ces cas, la dose limite mise en expérience est précédée du signe $>$ et la plus faible dilution essayée est précédée du signe $<$.

Cette insolubilité relative a été particulièrement gênante dans le cas du méthylène diuréthane.

1^o DÉTERMINATION DU POUVOIR ANTIGÉNÉTIQUE ET DU POUVOIR ANTIBIOTIQUE.

a) Dose antigénétique en bouillon.

Ainsi que nous l'avons définie plus haut, la dose antigénétique d'une substance est la quantité de cette substance qu'il faut ajouter à un litre de bouillon de culture pour y empêcher le développement des germes qui y sontensemencés à raison de 10 millions par centimètre cube.

Les doses antigénétiques en bouillon, vis-à-vis du colibacille et du staphylocoque doré, pour tous les corps étudiés, sont les suivants :

	Vis-à-vis du colibacille	Vis-à-vis du staphylocoque doré
Formol.....	0 gr. 60	0 gr. 35
Hexaméthylène tétramine	7 gr. 00	1 gr. 20
Méthylolbenzamide.....	1 gr. 40	2 gr. 50
Méthylène diuréthane.....	> 5 gr. 00	> 5 gr. 00

Les corps étudiés, dont le principe actif est le formol, se classent dans l'ordre suivant des activités décroissantes :

1^o Vis-à-vis du *colibacille*.

formol $>$ méthylolbenzamide $>$ hexaméthylène tétramine $>$ méthylène diuréthane.

2° Vis-à-vis du *staphylocoque doré*.

formol > hexaméthylène tétramine > méthylolbenzamide > méthylène diuréthane.

Le méthylène diuréthane s'est montré insuffisamment soluble pour fournir, dans les conditions des essais, un résultat numérique défini. Remarquons que le *staphylocoque doré* semble plus sensible que le *colibacille*, c'est-à-dire que les doses antigénétiques nécessaires pour empêcher son développement sont plus petites que celles nécessaires pour empêcher le développement du *colibacille*.

b) Dose antibiotique en eau distillée.

La dose antibiotique d'une substance est la quantité de cette substance qu'il suffit d'ajouter à un litre d'un milieu quelconque pour tuer, en 15 minutes, une quantité de germes fixée à 500 millions par centimètre cube.

Les doses antibiotiques obtenues, vis-à-vis du *colibacille* et vis-à-vis du *staphylocoque doré*, en eau distillée, pour les corps étudiés sont les suivants :

	Vis-à-vis du <i>colibacille</i>	Vis-à-vis du <i>staphylocoque doré</i>
Formol.....	12 gr. 50	5 gr. 50
Hexaméthylène tétramine	> 400 gr. 00	25 gr. 00
Méthylolbenzamide.....	16 gr. 00	18 gr. 00
Méthylène diuréthane.....	> 5 gr. 00	> 5 gr. 00

Nous ferons ici les mêmes remarques que nous avons faites lors de l'étude des dérivés résorciniques : d'une part, les corps étudiés se classent dans le même ordre en ce qui concerne leur activité sur le *colibacille* et sur le *staphylocoque doré* ; d'autre part, ce dernier germe est plus sensible que le *colibacille*, c'est-à-dire que les doses antibiotiques (de même que les doses antigénétiques) sont plus petites.

Donc, qu'il s'agisse du *colibacille* ou du *staphylocoque doré*, l'ordre des activités décroissantes est le suivant :

formol > méthylolbenzamide < hexaméthylène tétramine

Quant au méthylène diuréthane, de même que dans l'essai antigénétique, son insolubilité n'a pas permis d'obtenir dans les conditions de l'essai antibiotique, un chiffre défini.

La très faible activité de ces corps est ici tout à fait frappante

2^o DÉTERMINATION DU POUVOIR ANTIBIOTIQUE, *in vitro*,
EN URINE HUMAINE.

Pour les corps étudiés, nous donnons dans les tableaux ci-dessous les concentrations minima, ou les dilutions maxima, capables de tuer le colibacille et le staphylocoque doré, dans l'urine humaine, neutre, acide ou alcaline, après 1 heure et après 24 heures de contact des germes et de la solution antiseptique.

a) *Dilutions maxima détruisant le colibacille en urine humaine.*

Corps étudiés	Temps d'action	Essais en urine acide pH = 6-6,2	Essais en urine neutre pH = 7-7,2	Essais en urine alcaline pH = 8-8,2
Formol	{ 1 heure	1/300	1/280	1/300
	{ 24 heures	1/1400	1/1400	1/1400
Hexaméthylène	{ 1 heure	< 1/5	< 1/5	< 1/5
tétramine . . .	{ 24 heures	1/75	1/10	1/10
Méthylol benza-	{ 1 heure	< 1/50	< 1/50	< 1/50
mide	{ 24 heures	< 1/50	1/50	1/75

b) *Dilutions maxima détruisant le staphylocoque doré en urine humaine.*

Corps étudiés	Temps d'action	Essais en urine acide pH = 6-6,2	Essais en urine neutre pH = 7-7,2	Essais en urine alcaline pH = 8-8,2
Formol	{ 1 heure	1/150	1/150	1/50
	{ 24 heures	1/600	1/1000	1/1400
Hexaméthylène	{ 1 heure	< 1/5	< 1/5	< 1/5
tétramine . . .	{ 24 heures	1/75	1/30	< 1/5
Méthylol benza-	{ 1 heure	< 1/50	< 1/50	< 1/50
mide	{ 24 heures	1/300	1/75	< 1/50

L'examen de ces tableaux nous permet de tirer quelques conclusions quant à l'activité comparée des composés essayés en urine humaine et dans différentes conditions.

1^o L'ordre d'activité des substances examinées est le même, quel que soit le germe et quelle que soit la réaction de l'urine et il s'exprime ainsi :

formol > méthylolbenzamide > hexaméthylène tétramine

Quant au méthylène diuréthane, son pouvoir antibiotique en urine n'a pu être recherché, en raison de sa solubilité insuffisante.

2^o La sensibilité plus grande de l'un ou l'autre germe n'est

pas très visible ici, et les résultats sont à peu près les mêmes vis-à-vis du colibacille et vis-à-vis du staphylocoque doré.

3° La réaction de l'urine ne semble pas avoir d'influence sur l'activité de l'hexaméthylène tétramine et du méthylolbenzamide à l'égard du colibacille ; à l'égard du staphylocoque doré, l'activité de ces deux composés est plus marquée en urine acide et en urine neutre qu'en urine alcaline, pour les trois corps cités.

4° Le temps de contact des germes et de l'antiseptique est très important : pour un temps de contact de 1 heure, l'action bactéricide est obtenue avec des concentrations très fortes (ou des dilutions très faibles), comparativement à celles nécessaires pour un temps de contact de 24 heures.

Ainsi, pour les trois composés étudiés, il faut, en moyenne, des concentrations 10 fois plus fortes pour marquer une action antibiotique en 1 heure de contact qu'en 24 heures.

C. — Conclusions des essais *in vitro*.

En considérant l'ensemble des résultats obtenus dans les mesures du pouvoir antigénétique en bouillon, du pouvoir antibiotique en eau distillée et du pouvoir antibiotique en urine humaine, nous constatons une certaine concordance.

1° ORDRE D'ACTIVITÉ.

L'ordre d'activité du formol et des composés agissant par libération de formol a toujours été le même au cours de ces essais, vis-à-vis du colibacille comme vis-à-vis du staphylocoque doré, et il s'exprime ainsi :

formol > méthylolbenzamide > hexaméthylène tétramine > méthylène diuréthane.

a) Le *formol* lui-même est le plus actif, *in vitro*.

Nous avons retrouvé, pour son activité antiseptique, les caractéristiques signalées par les auteurs.

En effet, si les doses antigénétiques de formol sont relativement faibles, les doses antibiotiques sont beaucoup plus élevées, c'est-à-dire que le pouvoir antigénétique est assez grand comparativement au pouvoir antibiotique ; d'autre part, le pouvoir antibiotique, en urine humaine, révèle des variations considérables selon le temps de contact antiseptique-germes.

En somme, ainsi que l'avait reconnu en particulier HINMANN (127), le formol est un inhibiteur plutôt qu'un germicide et c'est un germicide lent.

b) Quant à l'hexaméthylène tétramine ou urotropine, nous pouvons conclure que son pouvoir antiseptique *in vitro* est très faible sinon nul. Il présente les mêmes caractéristiques que celui du formol, c'est-à-dire que si le pouvoir inhibiteur est sensible, le pouvoir germicide est presque nul et présente de très grandes variations selon le temps de contact antiseptique-germes.

c) Le méthylolbenzamide présente un pouvoir antiseptique inférieur à celui du formol, mais très supérieur à celui de l'hexaméthylène tétramine, et présentant les mêmes caractéristiques que celui de ces deux antiseptiques.

d) Quant au méthylène diuréthane, sa très faible solubilité a rendu impossible tout essai précis ; cependant son pouvoir antiseptique semble inférieur non seulement à celui du méthylolbenzamide, mais aussi à celui de l'urotropine.

2° SENSIBILITÉ DES GERMES.

Dans les essais du pouvoir antigénétique en bouillon et du pouvoir antibiotique en eau distillée, le staphylocoque a paru un peu plus sensible que le colibacille, mais cette différence n'a pas été retrouvée dans les essais du pouvoir bactéricide en urine humaine.

3° INFLUENCE DE LA RÉACTION DU MILIEU.

En milieu neutre et surtout en milieu légèrement acide ($\text{pH} = 6 - 6,2$), l'activité antiseptique de l'hexaméthylène tétramine et du méthylolbenzamide est plus marquée qu'en milieu alcalin, ce qui correspond à ce que l'on sait sur les conditions de libération du formol actif.

En résumé, l'hexaméthylène tétramine, le méthylolbenzamide, le méthylène diuréthane et le formol sont des antiseptiques assez faibles, surtout si nous les considérons comparativement aux dérivés résoreiniques étudiés dans la première partie.

Des deux nouveaux corps étudiés, capables de libérer du formol, méthylolbenzamide et méthylène diuréthane, le premier seul paraît être un antiseptique intéressant, et il s'est montré, dans les essais *in vitro*, supérieur à l'hexaméthylène tétramine.

II. — ÉTUDE DE L'ACTION ANTISEPTIQUE *IN VIVO*

Ainsi que nous l'avions fait pour les dérivés de la résorcine, l'étude de l'action antiseptique *in vivo* du méthylolbenzamide et du méthylène diuréthane, comparativement à l'hexaméthylène tétramine, a consisté en la détermination du pouvoir bactéricide acquis par l'urine du lapin, après administration de ces substances par voie buccale.

Cette action antiseptique *in vivo*, par passage dans l'urine du lapin, a été déterminée vis-à-vis du colibacille et vis-à-vis du staphylocoque doré.

Nous rappellerons la technique utilisée et nous exposerons les résultats obtenus.

A. — Technique.

Nous avons repris la technique utilisée pour l'essai *in vivo* des dérivés de la résorcine et exposée en détail à ce propos (p. 55). Nous avons pu l'appliquer à l'étude des composés du groupe de l'hexaméthylène tétramine, agissant par libération de formol. En effet, une telle extension de la méthode initiale de LEONARD avait été faite, il y a quelques années, par BOVET et M^{lle} DEMANCHE (89) : ces auteurs, tout en remarquant que cet essai *in vivo* constitue un contrôle assez sévère de l'activité antiseptique urinaire et ne pourrait pas être généralisé à toutes les séries chimiques, ont constaté qu'il convenait parfaitement à l'étude de l'urotropine et de divers dérivés de cette substance.

Rappelons que cette technique consiste essentiellement à recueillir, par sondage aseptique, l'urine de lapins auxquels ont été préalablement administrées, par voie buccale, des quantités variables de la substance étudiée, et à rechercher le pouvoir bactéricide, vis-à-vis de germes donnés, de cette urine prélevée à divers intervalles de temps, 2 heures, 4 heures, 6 heures, 8 heures et 24 heures après l'absorption de l'antiseptique.

Chaque essai comporte les opérations suivantes :

- 1° un sondage préliminaire ;
- 2° l'administration de la substance antiseptique ;
- 3° les sondages ultérieurs à l'administration de l'antiseptique, et la recherche du pouvoir bactéricide des urines recueillies.

Les germes utilisés dans les essais ont été le *colibacille* et le

staphylocoque doré, dont les cultures étaient préparées pour chaque essai comme il a été dit dans la première partie de l'exposé.

Nous avons appelé « *dose active par kilogramme d'animal* », la dose qui a permis d'obtenir au moins trois échantillons successifs d'urine bactéricide sur les 5 prélèvements effectués après administration de la substance, en d'autres termes, la dose pour laquelle les urines prélevées aux heures 2, 4 et 6, ou aux heures 4, 6 et 8, et mises en contact pendant 24 heures à 37°, dans des conditions bien définies, avec les microbes nommés plus haut, ont permis d'obtenir des subcultures négatives.

Les remarques que nous avons faites, dans la première partie, à propos des difficultés de cet essai, s'appliquent encore ici.

La réaction du milieu étant particulièrement importante pour l'activité antiseptique de l'hexaméthylène tétramine et des corps agissant par libération de formol, nous avons effectué les essais *en urine neutre*, *en urine acide* et *en urine alcaline*. Ainsi que nous l'avons dit dans l'exposé détaillé de la technique, ces différentes conditions étaient obtenues en soumettant les lapins à un régime spécial, alcalinisant ou acidifiant, complété par une médication appropriée (bicarbonate de sodium ou chlorhydrate d'ammoniaque).

Avant de rapporter les résultats, nous allons donner le schéma d'un essai.

SCHÉMA D'UN ESSAI.

Pouvoir antiseptique in vivo, sur le lapin, du méthylène diuréthane, vis-à-vis du colibacille et du staphylocoque doré, en urine neutre.

L'essai que nous rapportons avait été précédé de plusieurs essais en urine neutre (pH voisin de 7), avec des doses de 0 gr. 30 et 0 gr. 40 par kilogramme de poids d'animal : l'ingestion de ces doses avait donné lieu à l'émission d'urines bactéricides au cours de quelques prélèvements seulement.

Dans cet essai, une dose de 0 gr. 50 par kilogramme est mise en expérience.

Lapin n° 28 pesant 2 kgr. 600, nourri presque exclusivement de son et de pain pendant les deux jours précédant l'essai, pour obvier à la réaction naturellement alcaline de l'urine.

La dose à administrer a été de : $0 \text{ gr. } 50 \times 2,6 = 1 \text{ gr. } 30$ de méthylène diuréthane.

Après un sondage préliminaire de la vessie, le lapin a absorbé, au moyen d'une sonde œsophagienne, la dose d'antiseptique mise en suspension dans 10 cm^3 d'huile d'olive. Les sondages ont été effectués 2 heures, 4 heures, 6 heures, 8 heures et 24 heures après cette ingestion et les échantillons d'urine traités comme nous l'avons dit pour la mise en évidence du pouvoir bactéricide, et pour la mesure du pH.

Les différents échantillons d'urine recueillis ont fourni les résultats suivants :

Sondages	pH de l'urine	Subculture après contact de 24 h. à 37°	
		avec le colibacille	avec le staphylocoque doré
Préliminaire	7,2	+	+
Après 2 heures	7,2	+	+
Après 4 heures	6,8	0	0
Après 6 heures	6,8	0	0
Après 8 heures	7,0	0	0
Après 24 heures	7,4	+	+

+ = subcultures positives, c'est-à-dire que l'urine ne présentait pas de pouvoir bactéricide.

0 = subcultures négatives, c'est-à-dire que l'urine présentait un pouvoir bactéricide.

Ici, la dose de 0 gr. 50 de méthylène diuréthane par kilogramme s'est montrée nettement active vis-à-vis du colibacille et vis-à-vis du staphylocoque doré, l'urine demeurant au voisinage de la neutralité pendant la durée de l'essai. Pour les 2 germes, les subcultures étaient négatives, donc l'urine était bactéricide, après 4 heures, 6 heures et 8 heures.

B. — Résultats des essais *in vivo*.

Ainsi que nous l'avons dit ci-dessus, nous exprimons le pouvoir bactéricide des substances étudiées, *in vivo*, chez le lapin, par la dose, en grammes par kilogramme de poids d'animal, dont l'ingestion détermine l'émission d'urine bactéricide à l'égard du colibacille ou du staphylocoque doré, dans les conditions précisées.

Pour chaque substance (hexaméthylène tétramine, méthylolbenzamide et méthylène diuréthane) et pour chacun des germes

(colibacille et staphylocoque doré), nous donnons les résultats obtenus chez le lapin émettant des urines neutres (régime approprié), chez le lapin émettant des urines acides (régime approprié et administration de chlorhydrate d'ammoniaque) et chez le lapin émettant des urines alcalines (régime approprié et administration de bicarbonate de sodium).

1° HEXAMÉTHYLÈNE TÉTRAMINE OU UROTROPINE.

Nous avons traité 10 lapins avec des doses d'hexaméthylène tétramine allant de 0 gr. 20 à 0 gr. 60 par kilogramme.

a) Vis-à-vis du *colibacille*.

En *urine acide* et en *urine sensiblement neutre*, l'action bactéricide a toujours été nette à la dose de 0 gr. 25.

En *urine alcaline* une très faible action (un échantillon d'urine bactéricide) a été constatée à des doses inférieures à 0 gr. 50 et une action nette (trois ou quatre échantillons d'urine bactéricide) avec la dose de 0 gr. 60. Nous avons fixé la dose active à 0 gr. 55 par kilogramme.

b) Vis-à-vis du *staphylocoque doré*.

En *urine acide* et en *urine sensiblement neutre*, nous avons obtenu des résultats irréguliers avec la dose de 0 gr. 25 et des résultats constants (3 ou 4 échantillons d'urine bactéricide) avec la dose de 0 gr. 30 par kilogramme, qui a été prise comme dose active.

En *urine alcaline*, nous avons observé une légère action (tantôt 1, tantôt 2 échantillons d'urine bactéricide) avec la dose de 0 gr. 50, et une action nette avec la dose de 0 gr. 60 par kilogramme, qui a été prise comme dose active.

Ainsi qu'on pouvait l'attendre, l'action bactéricide de l'hexaméthylène tétramine, vis-à-vis du colibacille comme vis-à-vis du staphylocoque doré, s'est montrée sensiblement réduite par l'alcalinisation de l'urine. Dans l'urine au voisinage de la neutralité, elle était de même valeur que dans l'urine acide.

2° MÉTHYLOLBENZAMIDE.

Nous avons effectué sur 12 lapins l'essai de doses de méthylolbenzamide allant de 0 gr. 25 à 0 gr. 70 par kilogramme.

a) Vis-à-vis du *colibacille*.

En *urine neutre*, un des essais effectués avec une dose de 0 gr. 30 a donné un résultat net, tandis que les essais effectués avec une dose de 0 gr. 40 n'ont montré que des résultats irréguliers. Nous avons estimé que la dose active était supérieure à 0 gr. 40 par kilogramme.

En *urine acide*, après des essais non constants effectués avec des doses de 0 gr. 25, 0 gr. 30 et 0 gr. 40, nous avons estimé la dose moyenne active à 0 gr. 35 par kilogramme.

En *urine alcaline*, nous avons observé une action bactéricide faible et irrégulière avec les doses de 0 gr. 50, 0 gr. 60 et 0 gr. 70 et nous avons conclu que la dose moyenne active doit être supérieure à 0 gr. 60 par kilogramme.

b) Vis-à-vis du *staphylocoque doré*.

En *urine neutre*, les résultats des essais effectués avec des doses s'échelonnant de 0 gr. 25 à 0 gr. 50 ont été irréguliers et la dose active semble supérieure à 0 gr. 50 par kilogramme.

En *urine acide*, nous avons obtenu des résultats inconstants et la dose active semble légèrement supérieure à 0 gr. 35 par kilogramme.

En *urine alcaline*, nous n'avons constaté aucune action bactéricide avec les doses de 0 gr. 50, 0 gr. 60 et 0 gr. 70. La dose active serait donc supérieure à 0 gr. 70 par kilogramme.

Ainsi, le méthylolbenzamide, dont le pouvoir bactéricide *in vivo* est inférieur à celui de l'hexaméthylène tétramine, a présenté, comme ce dernier corps, une activité réduite, sinon annulée, en urine alcaline.

3^o MÉTHYLÈNE DIURÉTHANE.

Nous avons effectué, sur 12 lapins, l'essai de doses de méthylène diuréthane allant de 0 gr. 30 à 0 gr. 70 par kilogramme.

a) Vis-à-vis du *colibacille*.

En *urine neutre*, nous n'avons observé aucune action bactéricide avec les doses de 0 gr. 30 et 0 gr. 40. La dose de 0 gr. 50 a permis d'obtenir au moins 3 échantillons d'urine bactéricide, au cours de plusieurs essais, et elle a été fixée comme dose active.

En urine *acide*, l'activité bactéricide, faible à la dose de 0 gr. 30, a été sensible à la dose de 0 gr. 40 par kilogramme.

En urine *alcaline*, l'activité bactéricide, nulle pour les doses inférieures à 0 gr. 50, a été nette pour la dose de 0 gr. 60 par kilogramme, que nous avons appelée dose active.

b) Vis-à-vis du *staphylocoque doré*.

Nous avons observé, avec ce germe, les mêmes résultats qu'avec le colibacille, au cours des différents essais et dans les différentes conditions de réaction, c'est-à-dire que les doses actives ont été :

en urine *neutre*, 0 gr. 50 par kilogramme,
 en urine *acide*, 0 gr. 40 par kilogramme,
 en urine *alcaline*, 0 gr. 60 par kilogramme.

Le pouvoir bactéricide du méthylène diuréthane, un peu plus marqué en urine acide qu'en urine neutre, s'est montré légèrement affaibli en urine alcaline.

Nous résumons les résultats que nous venons d'exposer dans le tableau suivant, dans lequel les chiffres indiquent, en grammes par kilogramme de poids d'animal, les doses actives moyennes à l'égard de chaque germe considéré.

Doses actives par kilogramme de poids d'animal.

Substances essayées	Nombre de lapins traités	Urine neutre		Urine acide		Urine alcaline	
		Coli- bacille	Staphy- locoque	Coli- bacille	Staphy- locoque	Coli- bacille	Staphy- locoque
Hexaméthylène tétramine	10	0,25	0,30	0,25	0,30	0,55	0,60
Méthylolbenza- mide	12	0,40	0,50	0,35	0,35	0,60	0,60
Méthylène-diuré- thane	12	0,50	0,50	0,40	0,40	0,60	0,60

C. — Conclusions de l'essai *in vivo* du pouvoir antiseptique.

L'observation des résultats précédents nous permet d'énoncer quelques conclusions sur le pouvoir antiseptique *in vivo* des trois substances étudiées.

a) L'action bactéricide de l'hexaméthylène tétramine, du méthylol-benzamide et du méthylène diuréthane est très marquée *in vivo* et beaucoup plus importante que ne peuvent le faire prévoir les essais *in vitro*.

L'activité bien connue, *in vivo*, de l'hexaméthylène tétramine ou urotropine s'est confirmée dans nos essais par passage dans l'urine du lapin. En effet, l'urotropine agit sur le colibacille et sur le staphylocoque doré aux mêmes doses que l'hexylrésorcine.

Les deux autres composés essayés comparativement à l'hexaméthylène tétramine, méthylolbenzamide et méthylène diuréthane semblent de valeur peu différente l'un de l'autre. Cependant, la faible solubilité du méthylolbenzamide nous a empêchée d'effectuer des essais précis. D'après son activité *in vitro*, qui s'est montrée supérieure à celle de l'urotropine, on pourrait en attendre une activité *in vivo* assez marquée.

Le méthylène diuréthane semble un antiseptique non négligeable *in vivo*, bien que nous n'ayions pu déterminer avec précision sa valeur antiseptique *in vitro*.

b) *Sensibilité des germes.* — Il n'y a pas de différence notable dans l'action bactéricide de chacun des trois dérivés, selon qu'il s'agit du colibacille ou du staphylocoque doré. De très légères différences dans les doses actives du méthylolbenzamide et surtout de l'hexaméthylène tétramine feraient cependant penser que le colibacille est plus sensible que le staphylocoque doré à ces antiseptiques.

Remarquons que cette légère tendance est à l'inverse de celle constatée dans une partie des essais *in vitro*, et que cette même opposition a été notée à propos des dérivés résorciniques.

c) *Influence de la réaction du milieu.* — La réaction de l'urine a une influence très nette, en accord avec les connaissances antérieures sur le pouvoir antiseptique de l'urotropine dont la décomposition, avec libération de formol actif, nécessite un milieu acide.

Ainsi, pour le méthylolbenzamide et pour le méthylène diuréthane, aussi bien que pour l'hexaméthylène tétramine, l'alcalinisation de l'urine a eu pour effet une diminution très importante de l'action bactéricide.

d) *Comparativement aux dérivés résorciniques*, l'hexaméthylène tétramine garde toute sa valeur, et les deux autres dérivés présentent un certain intérêt.

Cependant, l'influence essentielle de la réaction du milieu demeure l'inconvénient de ce groupe d'antiseptiques.

CHAPITRE II

Toxicité générale et action irritante de l'hexaméthylène tétramine et de deux composés libérant du formol.

Données bibliographiques.

Si l'on examine les données des divers auteurs, la toxicité générale de l'hexaméthylène tétramine semble très faible.

D'après NICOLAÏER (147) et TRENDELENBURG (171) l'organisme des animaux à sang chaud est capable de supporter de fortes doses d'hexaméthylène tétramine. Ainsi, la souris peut absorber, sans inconvénient, 0 gr. 50 par jour, *per os*. Chez le lapin, une dose quotidienne de 10 gr., et chez le chien, une dose quotidienne de 15 gr., ne produit tout au plus qu'une néphrite.

L'hexaméthylène tétramine posséderait, d'après RUCKOLDT (158), une action convulsivante : cet auteur a observé, en effet, chez la grenouille, des convulsions d'origine médullaire, analogues à celles déterminées par la strychnine et la picrotoxine. Cette action n'a pas été confirmée, à notre connaissance, chez des mammifères.

Par contre, nous savons que chez l'homme, de fortes doses peuvent être injectées par voie hypodermique (GUNDRUM (120)), par voie intraveineuse (CROWE (104)) et dans la vessie (BURNAM (92) injection d'une solution à 50 %) sans que se manifeste une toxicité directe. La voie intraveineuse pourrait seulement provoquer des réactions anaphylactiques (CROWE, BURNAM).

Si les observations relatives à la toxicité générale de l'hexaméthylène tétramine sont assez réduites, par contre, de nombreuses manifestations d'une action irritante ont été signalées.

L'hexaméthylène tétramine ne serait pas irritante par elle-

même, mais seulement par sa décomposition avec libération de formol : celui-ci exerce son action nocive surtout sur la vessie, plus rarement sur le rein, causant des cystites, des néphrites, de l'hématurie.

Au cours de l'expérimentation sur les animaux de laboratoire, SIMON (168) a observé de l'hématurie chez le lapin avec des doses quotidiennes d'hexaméthylène tétramine de 8 gr. *per os*, et WIGGS (178) une néphrite déjà très nette chez le chien avec des doses relativement petites.

Chez cet animal, l'injection intraveineuse de doses très fortes détermine des altérations graves de la vessie, qui sont attribuables au formol libéré ; les mêmes lésions peuvent s'observer chez le cobaye, après une rétention urinaire expérimentale obtenue par ligature de l'urètre ou par des spasmes morphiniques (FOURNEAU (115)).

Chez l'homme, CROWE (104) a rapporté un cas d'hémorragie d'origine vésicale, SIMON (168), une cystite hémorragique. D'après ABT (83), l'hexaméthylène tétramine pourrait causer des néphrites graves et mortelles, mais de tels cas n'ont pas été confirmés. LOEPER (139) conclut de ses observations que l'hématurie est possible, mais qu'elle est excessivement rare. D'après BLANC (86), on l'observerait dans le cas d'administration de doses exagérées par voie endoveineuse. CARROLL (97) pense qu'une action irritante sur les glomérules et sur les membranes muqueuses peut être causée par l'administration prolongée d'hexaméthylène tétramine.

En réalité, ces incidents ne s'observent qu'après administration de fortes doses ou chez des individus particulièrement sensibles. Chez ceux-ci, d'après PATEIN (152), des doses quotidiennes supérieures seulement à 6 gr. et 8 gr. pourraient déjà provoquer de l'albuminurie et de l'hématurie.

MARIE et BEHAGUE (142) rapportent le cas d'hématurie provoquée volontairement chez deux prisonniers par absorption buccale pendant plusieurs jours, de 10 gr. environ d'urotropine. Cette absorption massive produisit de l'intolérance gastrique et une hématurie qui fut traitée et guérie sans difficultés. Cependant, des manifestations d'arthrite sèche dans les deux articulations coxo-fémorales apparurent chez l'un des sujets, 10 mois chez l'autre, 18 mois, après la première ingestion du médicament (PATEIN (152)).

Indépendamment de ces manifestations sur l'appareil urinaire, quelques troubles plus légers, consécutifs à l'usage de l'hexaméthylène tétramine, ont été rapportés.

COLEMAN (102) a observé, outre l'irritation de diverses muqueuses, des éruptions cutanées et des troubles digestifs ; des doses de 1 gr., 3 fois par jour, d'après THOMAS et WANG (171) peuvent causer fréquemment des indigestions. CANTORNE (96) signale que des accidents d'ordre anaphylactique peuvent survenir au cours d'un traitement par injections intraveineuses d'urotropine.

DAVIS (105) signale que la manipulation de l'hexaméthylène tétramine, dans l'industrie du caoutchouc, peut causer des irritations de la peau et particulièrement des muqueuses sécrétant des liquides acides. Ces dermatites et ces irritations des muqueuses disparaissent très facilement dès que l'action de l'agent irritant est supprimée.

Quant à diverses actions pharmacologiques de l'urotropine, nous ne possédons que peu de renseignements.

D'après NICOLAÏER (147) et d'après CROWE (104), la respiration et la pression sanguine ne seraient pas modifiées, au premier abord, chez le chien, après l'injection intraveineuse de un ou plusieurs grammes d'hexaméthylène tétramine. Mais, par contre, FLEIG (113), répétant l'expérience sur ces animaux, a observé, après un temps assez prolongé après l'injection, une faible élévation de la pression sanguine et une forte vaso-contriction rénale, qu'il a attribuées à l'action secondaire du formol dégagé dans le rein.

Chez ce même animal, l'injection intraveineuse d'hexaméthylène tétramine entraînerait une augmentation de l'excitabilité vagale (LE GRAND et SANTENOISE (135)).

En résumé, nous pouvons conclure, de l'examen de ces données, que l'hexaméthylène tétramine est inoffensive aux doses faibles et moyennes utilisées couramment en thérapeutique et qu'elle peut provoquer à fortes doses et chez des sujets particulièrement sensibles, des troubles très rarement graves et imputables à sa décomposition avec libération de formol.

ESSAIS PERSONNELS

De même que dans l'étude des dérivés résorciniques, nous avons eu à considérer pour l'hexaméthylène tétramine et les composés libérant du formol, la toxicité générale et l'action irritante sur l'appareil urinaire.

I. — TOXICITÉ GÉNÉRALE

La toxicité générale de l'hexaméthylène tétramine, du méthylolbenzamide et du méthylène diuréthane, a été déterminée sur le rat blanc, par administration buccale.

Après un rappel de la technique de cette détermination nous rapporterons les résultats obtenus.

1. Technique d'essai de la toxicité.

La technique a été exposée dans la première partie, à propos de la toxicité des dérivés résorciniques, et elle a été appliquée ici, sans aucune modification (voir p. 80).

Rappelons seulement que des doses variables et convenablement choisies des substances à étudier, mises en solution ou en suspension dans l'huile d'olive, au moment de l'essai, étaient administrées, par voie buccale, à des lots aussi homogènes que possible de rats blancs, mâles de préférence, maintenus dans les mêmes conditions dans les jours précédant l'essai.

Nous avons indiqué les diverses précautions pour cette opération.

Les animaux étaient mis ensuite en observation : l'autopsie des rats ayant succombé à des doses toxiques était effectuée.

Pour les substances qui ne se montrèrent pas toxiques à des doses très élevées (cas de l'hexaméthylène tétramine et du méthylène diuréthane) les animaux qui avaient reçu les doses les plus fortes furent sacrifiés afin d'observer l'état des organes.

Pour l'essai de chaque substance étudiée, nous avons utilisé de 12 à 15 rats au minimum.

La détermination rigoureuse de la dose létale moyenne n'étant pas possible, dans les conditions de nos essais, ainsi que nous l'avons dit précédemment, nous avons appelé « *dose toxique* »

la quantité minima de chaque substance qui, administrée par voie buccale, produisait la mort de l'animal d'expérience en 24 heures environ, cette quantité étant rapportée au kilogramme d'animal.

2. Résultats des essais.

Les « doses toxiques » ainsi que nous venons de les définir, obtenues pour l'hexaméthylène tétramine, le méthylolbenzamide et le méthylène diuréthane au cours de nos essais, sont les suivantes :

	Nombre de rats en expérience	Dose toxique par kg. d'animal
Hexaméthylène tétramine.	27	> 15 gr.
Méthylolbenzamide	17	1 gr. 50
Méthylène diuréthane	12	> 6 gr.

Détails des essais. Symptômes observés.

1° L'hexaméthylène tétramine a été essayée, quant à sa toxicité brutale, sur 27 rats.

Les doses administrées ont été : 0 gr. 10, 0 gr. 80, 1 gr., 1 gr. 60, 2 gr., 2 gr. 40, 3 gr., 3 gr. 60, 4 gr., 4 gr. 50, 5 gr., 7 gr., 10 gr. et 15 gr. par kilogramme d'animal. Ces doses n'ont pu être dépassées en raison des grandes quantités à faire ingérer.

Aucune mort ne fut observée avec ces diverses doses : même aux doses allant de 5 à 10 gr. les animaux restaient vigoureux.

L'autopsie de quelques animaux sacrifiés a été effectuée cependant et les reins particulièrement examinés.

Les rats ayant reçu 4 gr. par kilogramme présentaient déjà de la congestion rénale.

Chez les rats ayant reçu 10 gr. et 15 gr. par kilogramme nous avons observé des lésions rénales, apparemment identiques à celles constatées, comme nous le verrons ci-dessous, après l'administration de méthylène diuréthane à la dose de 6 gr. par kilogramme.

La dose toxique brutale de l'hexaméthylène tétramine est donc supérieure à 15 gr. par kilogramme ; cependant, des lésions rénales peuvent apparaître avec des doses comprises entre 10 gr. et 15 gr. par kilogramme.

2° Le méthylolbenzamide a été essayé sur 17 rats.

Les doses administrées ont été : 0 gr. 50, 0 gr. 75, 0 gr. 90, 1 gr. 1 gr. 50, 2 gr. et 3 gr. par kilogramme.

Nous n'avons noté aucune mort avec 0 gr. 50 et 0 gr. 75.

Nous avons observé par contre :

avec 0 gr. 90 par kilogramme, une mort (sur 2 animaux en expérience) en 1 heure ;

avec 1 gr. par kilogramme, une mort (sur 2 animaux en expérience) en 3 heures.

avec 1 gr. 50 par kilogramme, deux morts, l'une en 18 heures, l'autre en 72 heures ;

avec 2 gr. par kilogramme, deux morts, l'une en 5 heures, l'autre en 18 heures ;

avec 3 gr. par kilogramme, trois morts, l'une en 1 heure et demie, les deux autres en moins de 24 heures.

Nous avons fixé la dose minima toxique à 1 gr. 50 *par kilogramme*.

Les symptômes suivants apparaissaient 10 à 15 minutes après l'administration des doses les plus faibles essayées (0 gr. 50) : de la dyspnée, une tachycardie extrêmement forte, de l'exophthalmie, de la mydriase.

Avec les doses inférieures à 1 gr. 50, le retour à l'intégrité se produisait généralement en 4 à 24 heures. Avec les doses égales et supérieures à 1 gr. 50, la mort est survenue après des temps très variables (depuis 3 heures, et même 1 heure et demie, jusqu'à 72 heures).

A l'autopsie des animaux ayant succombé, nous avons observé surtout des phénomènes congestifs intenses des poumons, chez une femelle, une congestion très marquée de l'utérus. Les reins étaient normaux dans la majorité des cas ; une légère congestion a été notée chez quelques animaux ayant reçu les plus fortes doses.

La toxicité générale du méthylolbenzamide apparaît donc comme étant assez forte, surtout comparativement à celle d'une substance telle que l'hexaméthylène tétramine, qui est pratiquement négligeable.

3° Le *méthylène diuréthane* a été essayé sur 12 rats.

Les doses administrées ont été : 2 gr., 3 gr., 4 gr., 5 gr. et 6 gr. par kilogramme d'animal. Cette dernière dose n'a pu être dépassée, en raison des difficultés de solubilisation et d'administration.

Aucune mort ne fut observée avec les diverses doses essayées.

A partir de 3 gr., nous avons constaté seulement un peu d'asthénie et de diarrhée, troubles qui disparurent d'ailleurs rapidement.

A l'autopsie de quelques animaux sacrifiés, aucune irritation du tube digestif ne fut notée. Les rats ayant supporté des doses de 4 à 6 gr. par kilogramme présentèrent des lésions rénales, comme nous l'avons signalé plus haut pour l'hexaméthylène tétramine.

Nous en avons conclu que la dose toxique brutale de méthylène diuréthane était *supérieure à 6 gr. par kilogramme*, ce qui représente une toxicité assez faible, bien que ce composé soit capable de produire des lésions rénales à des doses inférieures.

II. — ACTION IRRITANTE SUR L'APPAREIL URINAIRE

En raison de l'action néphrétique signalée, ainsi que nous l'avons vu, par divers auteurs, pour l'hexaméthylène tétramine, et en raison des constatations que nous avons pu faire au cours de la détermination des toxicités générales de ce composé et du méthylène diuréthane, il était important de vérifier les conditions de cette action irritante par des essais complémentaires.

Dans ce but, nous avons effectué, d'une part des essais d'intoxication chronique sur le rat, d'autre part, sur le lapin, la recherche de l'albuminurie après l'administration de doses thérapeutiques.

1^o ESSAIS D'INTOXICATION CHRONIQUE SUR LE RAT BLANC.

Ces essais ont consisté en l'administration journalière *per os* de faibles doses, pendant plusieurs jours.

Trois rats reçurent respectivement, en 20 jours, 15, 16 et 17 doses de 0 gr. 50 par kilogramme d'*hexaméthylène tétramine*.

A la fin de cette période, deux des animaux furent sacrifiés et autopsiés aussitôt, le troisième étant gardé en observation encore pendant une semaine.

Dans un but comparatif, trois autres rats furent traités, de la

même façon, avec des doses journalières de 0 gr. 50 par kilogramme de *méthylène diuréthane*.

Dans l'un et l'autre cas, les rats ainsi traités ne manifestèrent aucun symptôme d'intoxication tant que dura ce traitement ; seule, une action diurétique nette a pu être notée chez les deux séries d'animaux.

A l'autopsie des animaux sacrifiés, nous avons constaté que les reins étaient congestionnés, plus gros que de coutume, et qu'ils présentaient des lésions nettes, plus apparentes dans le cas du méthylène diuréthane que dans celui de l'hexaméthylène tétramine.

2° RECHERCHE DE L'ALBUMINURIE SUR LE LAPIN.

Ainsi que nous l'avions fait pour les dérivés résorciniques, nous avons effectué, sur le lapin, pour les composés susceptibles d'agir par libération de formol, des épreuves systématiques afin de déceler l'action irritante possible sur le rein, aux doses thérapeutiques.

Des doses uniques de 0 gr. 50 par kilogramme d'hexaméthylène tétramine, de méthylolbenzamide et de méthylène diuréthane ont été administrées à des lapins, par voie buccale, comme pour l'essai de l'activité antiseptique. L'albumine vraie et la pseudoalbumine ont été recherchées dans les urines provenant des sondages préliminaires et des sondages effectués 4 heures, 8 heures et 24 heures après l'ingestion de l'antiseptique.

Deux à trois essais ont été réalisés pour chaque composé.

a) L'*hexaméthylène tétramine*, à la dose de 0 gr. 50 par kilogramme, n'a pas fait apparaître d'albumine vraie dans les urines recueillies dans les 24 heures suivant son absorption. Des traces de pseudoalbumine ont été seulement constatées.

b) Le *méthylolbenzamide*, à la dose de 0 gr. 50 par kilogramme, a entraîné l'émission d'urine contenant de l'albumine vraie, 4 heures, 8 heures et 24 heures après son absorption, au cours de trois essais.

c) Le *méthylène diuréthane*, à la dose de 0 gr. 50 par kilogramme, a permis l'obtention d'urine ne contenant aucune trace d'albumine vraie ou de pseudoalbumine, au cours des 24 heures suivant son absorption.

3^o HÉMATURIE OBSERVÉE AU COURS DES ESSAIS DU POUVOIR ANTISEPTIQUE.

Pour compléter les données relatives à l'action irritante de ces composés, nous signalons deux cas d'hématurie, observés au cours des essais du pouvoir antiseptique *in vivo* : l'un, après administration d'une dose de 0 gr. 30 par kilogramme de méthylène diuréthane, l'autre après administration d'une dose de 0 gr. 40 par kilogramme de méthylolbenzamide.

Cependant, des doses plus fortes de ces deux composés, au cours d'essais renouvelés, n'ont donné lieu à aucun signe plus grave d'irritation.

CONCLUSIONS.

1^o L'essai de la *toxicité générale*, effectué sur le rat blanc, par administration buccale, pour les trois antiseptiques examinés, a mis en évidence les faits suivants :

a) L'*hexaméthylène tétramine*, terme de comparaison, n'est pas toxique à la dose de 15 gr. par kilogramme. Cette très faible toxicité générale est un fait connu et nous n'en apportons ici qu'une simple vérification.

b) Le *méthylène diuréthane* est faiblement toxique : la dose de 6 gr. par kilogramme, qui n'a pu être dépassée dans nos essais, représente déjà une large tolérance.

c) Le *méthylolbenzamide*, avec une dose minima toxique de 1 gr. 50 par kilogramme, présente, à beaucoup près, la plus forte toxicité.

Au cours de ces mesures de la toxicité, nous n'avons pas constaté, avec ces composés, actifs par libération de formol, des symptômes d'irritation du tube digestif, constatés fréquemment avec les dérivés résoreiniques. Par contre, nous avons observé avec le méthylolbenzamide des phénomènes congestifs intenses du poulmon, et avec l'hexaméthylène tétramine et le méthylolbenzamide, une congestion rénale très marquée.

2^o L'essai de l'*action irritante* exercée sur le rein, chez le lapin, par des doses thérapeutiques (0 gr. 50 par kgr.) des trois composés examinés, nous a montré que seul le méthylolbenzamide provoquait une albuminurie légère mais sensible.

CONCLUSIONS DE L'ÉTUDE DE L'HEXAMÉTHYLÈNE TÉTRAMINE ET DE DEUX COMPOSÉS LIBÉRANT DU FORMOL

L'étude de l'action antiseptique *in vitro* et *in vivo*, de la toxicité générale et de l'action irritante de l'hexaméthylène tétramine et de deux composés voisins, susceptibles de libérer du formol, nous a conduite aux conclusions suivantes :

1^o En ce qui concerne l'ACTION IN VITRO, l'hexaméthylène tétramine, le méthylolbenzamide et le formol lui-même, qui nous a servi de terme de comparaison, se sont montrés des antiseptiques assez faibles et très inférieurs aux dérivés résorciniques.

Les doses antigénétiques et les doses antibiotiques obtenues pour ces corps sont très éloignées, ce qui manifeste qu'ils sont plutôt des inhibiteurs que des germicides.

Une concentration de 1/300 de formol a été nécessaire pour tuer le colibacille, dans l'urine humaine, en 1 heure de contact, et une concentration de 1/150 a été nécessaire pour tuer le staphylocoque doré dans les mêmes conditions. Avec le méthylolbenzamide, il a fallu des concentrations inférieures à 1/50 et avec l'hexaméthylène tétramine, des concentrations inférieures à 1/5 pour obtenir les mêmes résultats.

Le méthylolbenzamide s'est montré supérieur à l'hexaméthylène tétramine.

La faible solubilité du méthylène diuréthane a empêché des déterminations précises.

2^o En ce qui concerne l'ACTION IN VIVO, dans l'urine du lapin, l'hexaméthylène tétramine, le méthylolbenzamide et le méthylène diuréthane ont présenté une activité très marquée et très supérieure à celle manifestée *in vitro*.

Des doses de 0 gr. 25 à 0 gr. 60 par kilogramme, administrées

per os au lapin, se sont montrées capables de rendre l'urine bactéricide vis-à-vis du colibacille et du staphylocoque doré.

L'hexaméthylène tétramine est active aux mêmes doses que l'hexylrésorcine et les deux nouveaux composés sont un peu moins actifs.

Pour tous les trois, l'alcalinisation de l'urine a diminué nettement l'activité bactéricide, ce qui est en accord avec les conditions de libération du formol à partir de l'hexaméthylène tétramine.

3° En ce qui concerne la TOXICITÉ GÉNÉRALE déterminée chez le rat par voie buccale, elle s'est montrée très faible pour l'*hexaméthylène tétramine* et même pour le *méthylène diuréthane*.

Une dose de 13 gr. par kilogramme d'hexaméthylène tétramine, de même qu'une dose de 6 gr. par kilogramme de méthylène diuréthane, n'a provoqué que des lésions rénales chez les animaux en expérience.

Le *méthylolbenzamide*, par contre, s'est révélé toxique à la dose de 1 gr. 50 par kilogramme.

4° En ce qui concerne l'ACTION IRRITANTE, l'*hexaméthylène tétramine* et surtout le *méthylène diuréthane*, essayés chez le lapin, ne nous ont pas paru irritants pour le rein, aux doses thérapeutiques. Le *méthylolbenzamide* a provoqué, dans les mêmes conditions, une légère albuminurie.

En résumé, malgré des résultats *in vitro* assez faibles, les résultats obtenus *in vivo* pour les composés essayés sont très marqués et comparables, dans une certaine mesure, à ceux obtenus avec les dérivés résorciniques.

Le méthylolbenzamide, moins actif *in vivo* qu'*in vitro*, a révélé de plus, une toxicité et une action irritante non négligeables.

Le méthylène diuréthane serait beaucoup plus intéressant et comparable à l'hexaméthylène tétramine : il s'est montré nettement actif *in vivo*, peu toxique et semble dépourvu d'action irritante pour le rein aux doses thérapeutiques.

La diminution de la valeur de ces composés dans un milieu alcalin, empêchant la libération du formol actif, demeure leur inconvénient essentiel.

TROISIÈME PARTIE

Etude de deux sulfamides.

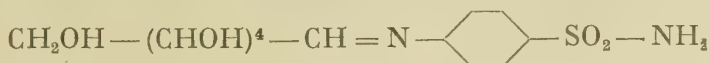
Nous avons cherché à déterminer la valeur des sulfamides en tant qu'antiseptiques urinaires en utilisant la technique d'essai *in vivo* qui nous avait permis d'étudier les dérivés résorciniques et des composés s'apparentant à l'hexaméthylène tétramine.

Nous avons pris comme élément essentiel de cette étude, la paraaminobenzène sulfonamide ou *sulfanilamide* (1162 F), répandue sous les noms commerciaux de Septoplix, Néo-Coccyll, Streptocide, Lysococcine, Prontosil album, Prontylin, etc... et appelée couramment sulfamide ou sulfonamide :



On sait que la sulfanilamide représente le terme initial de toute une série de dérivés, désignés sous le nom général de « sulfamides » et résultant de substitutions, soit sur la fonction amine, soit sur la fonction sulfonamide. Sans insister sur les nombreuses sulfamides qui tiennent une large place dans la littérature scientifique de ces dernières années, citons simplement, parmi les dérivés du premier type, un dérivé benzylé, le 46 R. P. ou Septazine, et, parmi les dérivés du second type, un dérivé pyridinique, le 693 ou Dagénan, et un dérivé méthylthiazolique, le 146 R. P. ou Thiazomide.

Nous avons joint à l'étude de la sulfanilamide, celle de la *glucose sulfanilamide*, dérivé résultant de la substitution du glucose sur la fonction amine et répondant à la formule :



Ce composé a été préparé et mis à notre disposition par M. DELANGE. Etant donnés les poids moléculaires du glucose (180) et du paraaminobenzène-sulfonamide (172), il peut être considéré comme renfermant 50 % de sulfanilamide. C'est une poudre blanche, un peu plus soluble dans l'eau que la sulfanilamide simple. Son point de fusion est voisin de 195° (190-200° avec carbonisation).

Nous avons eu l'occasion de l'étudier en tant qu'antiinfectieux dans les infections expérimentales streptococcique et pneumococcique de la souris, et nous avons constaté qu'il était équivalent à la sulfanilamide.

Nous n'avons pas jugé utile d'effectuer pour la sulfanilamide et la glucose sulfanilamide les déterminations *in vitro* du pouvoir antigénétique et du pouvoir antibiotique, les dérivés sulfamidés étant irrégulièrement actifs *in vitro*. Nous avons passé directement à l'expérimentation *in vivo* en envisageant successivement le pouvoir bactéricide par passage dans l'urine, l'élimination, et enfin l'action toxique et irritante de ces deux sulfamides.

Dans un *premier chapitre*, consacré à l'étude de la *valeur in vivo des deux sulfamides comme antiseptiques urinaires*, nous exposerons :

1° les données bibliographiques sur la valeur de la sulfanilamide considérée plus particulièrement comme antiseptique urinaire ;

2° nos propres essais sur la détermination du pouvoir bactéricide *in vivo*, par passage dans l'urine du lapin, de la sulfanilamide et de la glucose sulfanilamide, vis-à-vis du colibacille et du staphylocoque doré.

Dans un *second chapitre*, consacré à l'étude de l'élimination, nous considérerons de même :

1° les données bibliographiques sur l'absorption, la répartition et l'élimination de la glucose sulfanilamide ;

2° l'étude que nous avons faite sur l'élimination, chez le lapin, de la sulfanilamide et de la glucose sulfanilamide, au cours des essais du pouvoir bactéricide.

Enfin, dans un *troisième chapitre*, consacré à l'étude de la *toxicité*, nous exposerons :

1° les données bibliographiques sur la toxicité expérimentale de la sulfanilamide.

2° les essais que nous avons effectués, comparativement, sur la toxicité générale et sur l'action irritante de la sulfanilamide et de la glucose sulfanilamide.

CHAPITRE I

Action de la sulfanilamide et de la glucose sulfanilamide dans l'antisepsie urinaire.

Données bibliographiques sur l'action de la sulfanilamide comme antiseptique urinaire.

A la suite de la découverte, désormais historique, par DOMAGK (1935) (203 et 204) de l'activité de la sulfamido-chrysoïdine ou Prontosil (colorant azoïque synthétisé par MIETSCH et KLARER) dans l'infection streptococcique expérimentale de la souris, les résultats frappants obtenus en clinique dans toutes les infections à streptocoque hémolytique incitèrent les chercheurs à étendre le champ d'action du médicament à d'autres infections.

En France et dans les pays anglo-saxons, après que les travaux de FOURNEAU, TREFOUEL et leur école (215), eurent mis en évidence le rôle essentiel d'une fraction de la molécule du Prontosil, la para-aminobenzène-sulfonamide ou sulfanilamide, libérée d'ailleurs, dans l'organisme, par la dislocation de l'azoïque, les mêmes recherches furent envisagées avec ce nouveau corps appelé 1162 F en France, ou plus simplement, sulfonamide ou sulfamide.

Parmi les nombreuses infections auxquelles a été appliquée au laboratoire et en clinique la sulfanilamide, nous n'envisagerons ici que les infections urinaires dues principalement au colibacille. DOMAGK (204), récapitulant la chimiothérapie des infections bactériennes en même temps que les premiers résultats apportés par le Prontosil, note que dans les infections urinaires à colibacille, on a utilisé déjà des composés azoïques (Pyridium, Néotropine,

Sérénium) mais sans bases expérimentales. Ainsi, le Prontosil fut directement essayé en clinique dans le traitement de ces infections. En Allemagne, KLEE et ROMER (244) rapportèrent, les premiers, l'action favorable du Prontosil : à leur suite, de nombreux auteurs (IMHAUSER (242), TEMING (312), KLEIN (245), MARAUN (262), PERNICE (287), RENNER (292), HUBER (240), MEISSNER (275), TURK (316), WEISER (323), UNSHELM (317)) la confirmèrent dans le traitement des pyuries à colibacille chez les adultes et surtout chez des enfants et des nourrissons.

Avec la sulfanilamide, KENNY, JOHNSTON et HAEBLER (243) réalisèrent le traitement de pyélites simples, de cystites, mais surtout de pyélites gravidiques et d'infections urinaires précédant ou suivant les opérations gynécologiques : les infections causées par des colibacilles typiques cédèrent facilement à l'administration de la sulfamide, de même que quelques infections causées par *Bacterium aerogenes* et *Bacterium proteus*, mais celles causées par des germes coliformes atypiques se montrèrent résistantes.

Ce n'est qu'à la suite de ces premiers résultats favorables dans les infections humaines que l'action des sulfamides sur le colibacille, les germes voisins et ceux présents dans les infections urinaires, a été plus spécialement étudiée *in vitro* et *in vivo* dans l'infection expérimentale.

I. — ACTION DE LA SULFANILAMIDE *IN VITRO*

Les résultats de l'expérimentation *in vitro* présentent des variations considérables selon les techniques et selon les milieux utilisés par les auteurs.

SUPNIEWSKI et HANO (311) avaient observé, aux concentrations de 25 à 50 mgr. % de *p*-aminobenzène-sulfonamide, une action bactéricide *in vitro* sur des germes gram positifs (staphylocoque, streptocoque, pneumocoque) mais aucune action sur les germes gram négatifs en général et sur le colibacille en particulier. Il faut remarquer, en passant, que, pour d'autres auteurs, le staphylocoque se montre, comme les germes gram négatifs, résistant *in vitro*. C'est ainsi que, pour LONG et BLISS (253), une concentration de 1/10.000 de sulfanilamide en bouillon sérum

n'affectait pas la croissance du staphylocoque doré ni celle des bacilles gram négatifs apparentés au colibacille. En présence de 1/1.000 de sulfanilamide en bouillon simple, NITTI, BOVET et DEPIERRE (281) d'une part, ROSENTHAL (297) d'autre part, avec des techniques différentes, ont constaté la croissance normale du staphylocoque et du colibacille. Seuls, BUTTLE et ses collaborateurs (191) obtinrent, pour cette même concentration, mais seulement dans des conditions d'anaérobiose, vis-à-vis du bacille d'Aertrycke et du bacille typhique, un effet inhibiteur léger, se traduisant par un retard de croissance de 16 heures ; dans le sang humain, ils observèrent pour une concentration de 0,4 ‰ une légère action bactéricide qui n'existe pas dans un sang privé de leucocytes.

D'après LURIA (257), des concentrations de 2 à 3 ‰ de sulfanilamide, en bouillon, sont nécessaires pour produire, à l'égard du colibacille, une action bactériostatique immédiate et une action bactéricide tardive, avec dégénérescence. Lors d'un second passage en milieu sulfamidé, les colibacilles sont sensibilisés et la culture peut être tuée ; enfin après quelques passages, on peut observer, au contraire, une accoutumance.

Les données les plus intéressantes sur l'action de la sulfanilamide *in vitro*, vis-à-vis du colibacille et de diverses bactéries rencontrées dans l'urine, ont été apportées par des essais effectués dans l'urine et par une comparaison de l'action dans ce milieu et dans divers milieux peptonés.

FISCHER (213) avait observé, dans l'urine du chien recevant, *per os*, de la sulfanilamide, une inhibition de la croissance du streptocoque, mais la croissance normale du staphylocoque et du colibacille. Par la suite, et chez ce même animal, FARREL, LYMAN et YOUNG (209) ont signalé, au contraire, que le passage de la sulfamide dans l'urine rendait celle-ci bactéricide pour ces deux germes.

Après avoir enregistré de bons résultats cliniques, KENNY, JOHNSTON et HAEBLER (243) éprouvèrent le pouvoir bactéricide de l'urine amenée à pH 6,0 et provenant de malades soumis à l'ingestion de sulfamide. En opérant sur plusieurs souches de colibacille, isolées d'infections qui avaient cédé au traitement, ils constatèrent, à l'égard de quelques-unes, une action bactéricide grossièrement proportionnelle à la quantité de sulfamide contenue dans les urines. Ils notèrent surtout, ce qui n'était pas

apparu dans les essais *in vivo*, de très grandes différences de sensibilité selon les souches, certaines se montrant même totalement résistantes. Ainsi, cette seule expérimentation ne pouvait servir de guide aux essais cliniques. KENNY et ses collaborateurs imputèrent l'absence d'action bactéricide *in vitro*, dans certains de leurs essais, à une quantité probablement trop faible de sulfanilamide dans les urines éprouvées ; ils expliquaient les résultats plus nets *in vivo* parce que le médicament interviendrait sans doute localement, mais surtout par un processus général étant donné sa répartition dans les tissus.

De même, pour LONG et BLISS (253), la sensibilité des bactéries à la sulfamide, dans l'urine, est variable non seulement selon les germes, mais, pour un même germe, selon les souches. Ils ont obtenu, quoique non constamment, une inhibition de la croissance des staphylocoques blanc et doré, germes assez sensibles, du colibacille, du proteus, du streptocoque hémolytique, etc... ; l'entérocoque n'est pas sensible à la sulfanilamide dans l'urine ni dans un autre milieu (NETER) (282).

Par contre, HELMOLTZ (232) affirma une action bactéricide très nette et assez constante de l'urine renfermant de la sulfanilamide, non seulement à l'égard du colibacille, mais encore à l'égard d'autres germes rencontrés dans les infections urinaires. Il enregistra ainsi, après avoir utilisé plusieurs souches de chaque organisme, des résultats particulièrement frappants vis-à-vis d'*Escherichia coli*, *Proteus vulgaris*, *Aerobacter aerogenes*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus* ; seul *Streptococcus faecalis* n'était pas sensible. En accord avec cet auteur, COKKINIS (196) conclut de ses propres essais que le groupe coliforme présentait le plus grand nombre de souches sensibles à l'action de la sulfanilamide. Cependant, avec la même technique et les mêmes organismes qu'HELMOLTZ, SICKLER (304) devait constater, un peu plus tard, une action inhibitrice incontestable, mais très variable selon les souches, pour des urines contenant de 25 à 80 mgr. % de sulfanilamide libre.

Il est indispensable, en effet, pour définir la sensibilité des bactéries, de tenir compte des *concentrations de sulfanilamide*, et, bien que ce dernier point soit contesté, de la *réaction de l'urine*.

Tandis que LONG et BLISS (253) réclamaient une concentration de sulfanilamide libre de 100 à 200 mgr. pour 100 cm³ d'urine, pour que se manifeste une action bactériostatique à l'égard du coli-

bacille, et seulement 100 à 150 mgr., à l'égard du staphylocoque, MELLON et SHINN (276) donnèrent comme limite de l'action bactériostatique à l'égard du premier germe, une concentration de 10 mgr. pour 100 cm³, en présence de 1.000 bactéries par centimètre cube. HELMOLTZ et OSTERBERG (235) indiquèrent d'abord un taux moyen de sulfanilamide de 30 mgr. ‰, bactériostatique à l'égard du colibacille et de quelques autres germes (proteus, staphylocoque doré). Cependant, observant que par l'administration de sulfanilamide l'urine tend vers l'alcalinité, ils étudièrent plus attentivement (236) les rapports entre les quantités de sulfamide libre présentes, le pH de l'urine et le pouvoir bactéricide. Ils constatèrent que celui-ci augmente quand on alcalinise l'urine. Ainsi, à pH 6,2, il faut une concentration de sulfanilamide libre de 50 mgr. pour 100 cm³ d'urine, pour produire un effet bactéricide sur le colibacille et sur le proteus, tandis qu'aux pH 7,3, 7,8 et 8,0, des concentrations de 30 à 40 mgr. sont nettement bactéricides, et des concentrations inférieures peuvent être bactériostatiques. Ces chiffres ne valent que pour la sulfanilamide libre, la forme acétylée n'ayant pas d'action bactéricide dans l'urine, même à pH 7,8 et à des concentrations allant jusqu'à 200 mgr. ‰. Pour MELLON et SHINN (276), les variations d'activité avec le pH de l'urine sont telles qu'une solution de sulfanilamide à 10 mgr. ‰, à pH 7,2, est équivalente à une solution à 100 mgr. ‰ à pH 6,0. SICKLER (304) reconnut, de même, une augmentation de l'activité avec le pH, après avoir recherché l'effet de l'alcalinité seule, invoquée par HERROLD (238) pour expliquer les variations observées; en réalité, l'alcalinité rencontrée dans l'urine n'excédant pas, pratiquement, un pH de 8,0, ne peut suffire pour amener un effet bactériostatique.

En désaccord avec les précédents, quelques auteurs dont LONG et BLISS (253), KENNY et ses collaborateurs (213), n'ont pu constater aucun changement dans l'activité bactéricide en faisant varier la réaction de l'urine.

Pour l'instant, en ce qui concerne l'action *in vitro* sur les germes rencontrés habituellement dans les infections urinaires, on peut admettre pratiquement que la sulfanilamide est capable d'inhiber la croissance dans l'urine du colibacille, du staphylocoque et du proteus, dans certaines conditions, malgré les discordances rencontrées dans la mise en évidence de cette action.

D'un point de vue plus théorique et plus général, la *comparaison de l'action de la sulfanilamide dans l'urine et dans les milieux peptonés* a apporté des résultats troublants. Les premiers, MEL-LON et SHINN (276 et 277) enregistrèrent une action bactériostatique à l'égard du colibacille seulement lorsque les milieux de dilution et de contact étaient constitués par l'urine, mais aucune action en bouillon. Ils interprétèrent ce résultat en supposant que le bouillon exerce un effet protecteur sur le colibacille ou un effet inhibiteur sur le médicament, tandis que l'urine, milieu défavorable au colibacille, « potentialise » l'effet de l'antiseptique. Pratiquement ils conclurent cependant à une corrélation entre essais *in vitro* et *in vivo*, les divergences provenant seulement de techniques différentes utilisées par les auteurs.

Dans la suite, SPINK (307) observa, de même, pour les staphylocoques, une action bactéricide de la sulfanilamide dans l'urine, mais non dans une solution de peptone, l'addition à l'urine de petites quantités de peptone suffisant pour produire une diminution de l'activité. Il pensa que des substances présentes dans le milieu peptoné et appartenant probablement à des systèmes redox, devaient inhiber certaines réactions nécessaires pour la manifestation de l'action bactéricide. Une semblable diminution, en présence de peptone, de l'effet bactériostatique de la sulfanilamide sur divers organismes (staphylocoque, bacille d'Aertrycke, streptocoque pyogène) a été signalée aussi par FLEMING (214). Nous verrons un peu plus loin l'explication probable de ces faits.

Ce sont des travaux récents qui ont prouvé que l'action des sulfamides sur le colibacille *in vitro* était constante dans un milieu synthétique. WOODS et FILDÉS (326), utilisant les premiers un tel milieu, affirmèrent la sensibilité du colibacille à la sulfanilamide.

L'action bactériostatique, *in vitro*, dans ces conditions de milieu bien déterminées, a été confirmée par LEVADITI et PERRAULT (250) pour la para-aminobenzène-sulfonamide, pour son dérivé pyridinique et même pour des dérivés à fonction sulfone et sulfoxyde. LWOFF, NITTI et M^{me} J. TRÉFOUEL (259) ont observé une réduction considérable de la vitesse de développement d'*Escherichia Coli* dans un milieu synthétique renfermant de la para-aminobenzène-sulfonamide, quelle que soit l'importance de l'ensemencement ; des concentrations de 1/20.000 et 1/10.000

de sulfanilamide produisaient seulement un léger retard dans la multiplication, et la plus forte concentration essayée (voisine de 1 gr. 50 pour 1.000) n'amenait pas l'inhibition complète. Ici encore, ces auteurs ont constaté que la sensibilité du colibacille à la sulfanilamide était plus grande en milieu légèrement alcalin qu'en milieu acide : ainsi à pH 6,5 il faut environ deux fois plus de sulfanilamide pour produire la même action qu'à pH 7,4.

L'influence du pH, contestée à propos de l'action de la sulfamide dans l'urine, semble donc confirmée maintenant.

II. — ACTION *IN VIVO* DANS L'INFECTION EXPÉRIMENTALE A BACILLE COLI ET GERMES VOISINS

Continuant d'appliquer les techniques d'essai *in vivo* des sulfamides valables pour le streptocoque, divers auteurs ont tenté de produire l'infection expérimentale de la souris par des germes tels que le colibacille et des bactéries voisines, et de les soumettre au traitement sulfamidé.

FISCHER (213) ne trouva aucune action de la sulfanilamide chez des souris infectées, par voie intrapéritonéale, par le colibacille (et même par le staphylocoque).

BUTTLE et ses collaborateurs (PARISCH, MAC LEOD et STEPHENSON) (192) réalisèrent des infections intrapéritonéales avec diverses bactéries à gram négatif, en particulier des bactéries du groupe typhique (bacille typhique, paratyphique B, bacille d'Aertrycke, Pasteurella), dont ils renforçaient la virulence par addition de mucine (méthode de MILLER et CASTLES). Ils conclurent que la sulfanilamide peut protéger les souris contre de multiples doses léthales de bacille typhique et de paratyphique B, et assurer une certaine protection contre le bacille d'Aertrycke.

COOPER, GROSS et LEWIS (199), utilisant des germes provenant d'infections urinaires et intestinales humaines, infectaient des souris, par le même procédé, avec des dilutions de culture représentant 10, 100 ou 1.000 doses léthales. Le traitement sulfamidé se montra efficace contre 10 et 100 doses léthales de colibacilles (guérison de 55 % des animaux infectés) tandis qu'il agissait seulement sur 10 doses léthales de proteus.

Une expérimentation analogue a été reprise par KOLMER et RULE (216) avec une culture pure d'un colibacille isolé d'une

pyélonéphrite humaine, mais cette souche très résistante à l'action de la sulfanilamide *in vitro* s'est montrée également peu sensible *in vivo*.

Tous ces essais sont à rapprocher de ceux effectués avec beaucoup de précision par HELSPER (237) pour le Prontosil. Partant de résultats cliniques, cet auteur ne put observer d'action bactéricide ou bactériostatique *in vitro* sur le colibacille, et se heurta dans les essais *in vivo* d'abord à la difficulté de maintenir la virulence des germes, puis à l'insuccès du Prontosil, quelle que soit la voie d'infection et le mode de traitement des souris infectées.

Il est raisonnable de penser, avec ce dernier auteur, qu'on ne peut attendre aucune indication clinique de tels essais, une péritonite ou une septicémie à colibacille de la souris ne pouvant être assimilée aux infections locales produites habituellement par ce germe chez l'homme.

MAYER (274) compara, suivant la même technique, l'action du 1162 F et de son dérivé pyridinique (Dagénan) dans les infections colibacillaires et staphylococciques de la souris et il conclut à une nette activité, surtout pour le second composé.

III. — ACTION DE LA SULFANILAMIDE DANS LA THÉRAPEUTIQUE DES INFECTIONS URINAIRES

Nous citerons seulement les principaux rapports sur l'emploi des sulfamides en général, et de la para-aminobenzène-sulfonamide en particulier, dans le traitement des infections urinaires courantes.

Outre les essais cliniques déjà signalés de KENNY et ses collaborateurs (243), de HELMHOLTZ (234), de LONG et BLISS (254), de nombreux résultats favorables ont été enregistrés en France et à l'étranger dans les pyuries à colibacille (principalement par PALAZZOLI (286), GESSLER et LIPPIENS (220), GOURNAY et LEBALC'H (224), DUREL (207), LEREBOULLET (249), BLOCH (189), CUTHBERT (200), HANSEN (227), COOK et BUCHTEL (198), WEINGARTEN (322), SCHNORR et ESKJAER (300), etc...).

Les infections à cocci répondraient moins bien au traitement (COOK et BUCHTEL). L'entérocoque et le streptocoque focalis

sont insensibles ; la sensibilité du staphylocoque varierait selon les souches.

En raison de l'action particulièrement nette de la sulfanilamide en milieu alcalin, divers auteurs (dont HELMHOLTZ (234), COOK et BUCHTEL (198), SCHNORR et ESKJAER (300)) ont constaté les bons résultats obtenus dans les infections à bacille proteus qui sont toujours caractérisées par un pH urinaire élevé.

Les règles de la thérapeutique et les conditions d'action de la sulfanilamide ont été exposées principalement par HELMHOLTZ (233 et 234) qui signale l'importance du fonctionnement rénal, bien qu'il ait été possible, dans quelques cas, d'obtenir une action bactéricide chez des malades dont les reins n'étaient pas indemnes. HELMHOLTZ préconise de fortes doses, l'administration simultanée de bicarbonate de sodium et conseille de restreindre l'absorption de liquide si la concentration de sulfanilamide dans l'urine est insuffisante. LUCAS et MITCHELL (256) donnent le même conseil. Cependant, comme le fait remarquer DUREL (207) il faut craindre une concentration trop forte et la précipitation possible du produit sulfamidé non seulement dans l'urine, mais dans l'organisme.

Quoi qu'il en soit, les sulfamides constituent, à l'heure actuelle, une médication précieuse dans les infections urinaires, et efficace, en particulier, dans des cas où les thérapeutiques par l'acide mandélique ou par un régime acidifiant ne peuvent être utilisées. A ce point de vue, des associations diverses ont été proposées, en particulier avec l'acide mandélique par MOSSINI (279).

IV. — MODE D'ACTION DE LA SULFANILAMIDE

Bien que nous n'ayions pas l'intention d'exposer ici le problème du mode d'action des sulfamides, nous ne pouvons passer sous silence les données récentes qui permettent d'expliquer bien des divergences précédentes et dont une partie se rattache à des essais *in vitro* avec le colibacille.

Il s'agit essentiellement de la découverte des corps antisulfamides, en relation avec quelques idées antérieures.

D'une part, l'idée que la sulfanilamide peut agir en produisant d'abord une perturbation du mécanisme de reproduction des cellules bactériennes, a été émise par WOLF et JULIUS (324), à la

suite de minutieux essais *in vitro*. Elle est à rapprocher des constatations de LURIA (257) sur les modifications morphologiques du colibacille après passage en milieu sulfamidé ; en effet, cet auteur constata, ce qui ne serait pas spécifique, d'ailleurs, de l'action de la sulfanilamide, que « dès les premières divisions, les bactéries deviennent plus grosses et plus réfringentes que normalement, et qu'une petite partie des germes ensemencés, au lieu de se diviser, s'allonge jusqu'à atteindre 5 et 10 fois la longueur normale ».

D'autre part, l'idée d'une intervention de la sulfanilamide dans un système enzymatique intéressant le métabolisme bactérien a été soupçonnée par SPINK (307), comme nous l'avons vu plus haut, ainsi que par MAC INTOSH et WHITBY (261).

Ce fut d'abord STAMP (308) qui isola d'une culture de streptocoque une substance capable d'agir comme antagoniste de l'action bactériostatique du para-aminobenzène-sulfonamide et d'autres dérivés sulfamidés, et envisagea que ce serait soit un acide aminé essentiel à la nutrition des bactéries, soit une partie d'un système enzymatique affecté par le médicament.

Puis GREEN (222) supposa que la sulfanilamide inhibait l'action d'un facteur exerçant normalement, en tant que co-ferment, une influence sur un certain processus de métabolisme, essentiel pour la multiplication microbienne.

Enfin, WOODS (325) ayant isolé de la levure un facteur à propriétés chimiques voisines de celles de la sulfanilamide, rechercha, puis reconnut l'activité antisulfamidique *in vitro* de l'acide para-amino-benzoïque. SELBIE (303), puis LEVADITI et PERRAULT (250 et 251) ont confirmé l'action empêchante de l'acide para-aminobenzoïque *in vitro* et *in vivo* dans les infections à streptocoque et à bacille coli, à l'égard de la para-aminobenzène-sulfonamide, de son dérivé pyridinique et de divers dérivés à fonction sulfone et sulfoxyde.

L'action de la sulfanilamide peut être neutralisée par l'acide para-aminobenzoïque à concentration moléculaire 5 à 25.000 fois inférieure. Or, les milieux de culture ordinaires, peptonés, renferment une quantité importante d'antisulfamide : d'après LWOFF, NITTI et M^{me} J. TRÉFOUEL (259), « une solution de peptone à 2 % contient une proportion d'antisulfamide capable de neutraliser l'effet de la sulfamide à une concentration correspondant à plusieurs fois la concentration de la solution saturée ».

De là, les difficultés et les échecs pour établir l'action de la sulfamide *in vitro*, sauf dans les milieux synthétiques. Les résultats très divergents enregistrés dans les essais d'action de la sulfanilamide sur divers germes s'expliqueraient seulement par des variations dans la quantité d'acide para-aminobenzoïque (ou d'un corps voisin) essentiel à la croissance bactérienne. A l'heure actuelle, on en est venu à penser que toutes les bactéries seraient plus ou moins sensibles à la sulfamide (GREEN (222)) et que les différences de sensibilité proviendraient de différences dans la vitesse de synthèse de cette substance essentielle (WOODS (325)).

Mieux encore, les corps antisulfamides peuvent être décelés dans les humeurs de l'organisme. C'est ainsi que NITTI et PALAZZOLI (285) ont déterminé leur présence dans l'urine humaine des malades résistant à la thérapeutique sulfamidée, mais jamais chez des individus sensibles au traitement.

En résumé, ces données récentes apportent un grand éclaircissement à la question du mode d'action des sulfamides et ouvrent un nouveau champ d'investigations.

ESSAIS PERSONNELS

MESURE DE L'ACTION BACTÉRICIDE *IN VIVO*, DANS L'URINE DU LAPIN

Nous avons étudié l'action antiseptique *in vivo* de la sulfanilamide et de la glucose sulfanilamide, comme celle des dérivés résorciniques et des composés apparentés à l'hexaméthylène tétramine, en déterminant le pouvoir bactéricide, vis-à-vis du colibacille et du staphylocoque doré, acquis par l'urine du lapin après administration de ces substances par voie buccale.

Nous rappellerons la technique utilisée, puis nous exposerons les résultats obtenus.

A. — Rappel de la technique.

Pour les sulfamides comme pour les dérivés résorciniques et les composés se rattachant à l'hexaméthylène tétramine, nous

avons appliqué la technique d'essai *in vivo* des antiseptiques urinaires, dont nous avons donné le détail dans la première partie de ce travail (p. 55).

Rappelons seulement que cette technique consiste à recueillir, par sondage aseptique, l'urine de lapins auxquels ont été préalablement administrées, par voie buccale, des quantités variables de la substance étudiée, et à rechercher le pouvoir bactéricide, vis-à-vis de germes donnés, de cette urine prélevée à divers intervalles de temps, 2 heures, 4 heures, 6 heures, 8 heures et 24 heures après l'administration médicamenteuse.

Afin de pouvoir étudier le pouvoir antiseptique dans une urine acide et dans une urine alcaline, les lapins étaient soumis, 48 heures avant l'essai, à un régime approprié et recevaient, en outre, le jour de l'essai, l'administration d'une substance acidifiante (chlorhydrate d'ammoniaque), ou alcalinisante (bicarbonate de sodium). A ce propos, nous avons constaté, ce qui avait déjà été signalé par HELMHOLTZ (236), que l'ingestion de sulfamide produit une alcalinisation très marquée de l'urine.

Aussi, dans le cas des essais en urine acide, il n'a pas été possible de maintenir, pendant toute la durée de l'essai, un pH voisin du pH de départ (égal ou inférieur à 6,0) : les échantillons d'urine prélevés 2 heures et 4 heures après l'ingestion de la sulfamide possédaient presque toujours un pH voisin de 7,0 ou même supérieur à ce chiffre. Donc, la réaction de l'urine indiquée pour ces essais est essentiellement la réaction préliminaire.

L'administration des deux sulfamides, substances peu solubles dans l'eau et insolubles dans l'huile, s'effectuait sous forme d'une suspension aqueuse, en présence de poudre de gomme arabique.

Les germes utilisés dans les essais ont été le colibacille et le staphylocoque doré.

EXPRESSION DES RÉSULTATS.

Nous avons considéré comme « dose active par kilogramme d'animal », la dose qui a permis d'obtenir au moins trois échantillons successifs d'urine bactéricide sur les 5 prélèvements effectués après administration de la substance essayée, en d'autres termes, la dose pour laquelle les urines prélevées aux heures 2, 4 et 6 ou aux heures 4, 6 et 8, et mises en contact pendant 24 heures à 37°, dans des conditions bien définies,

avec les microbes nommés plus haut, ont permis d'obtenir des subcultures négatives.

Nous avons déjà signalé, dans la première partie, les diverses difficultés de cette technique. Nous verrons qu'il nous a été difficile ici de fixer des « doses actives ».

SCHÉMA D'UN ESSAI.

Pouvoir antiseptique in vivo, sur le lapin, de la sulfanilamide vis-à-vis du colibacille et du staphylocoque doré, en urine alcaline.

Nous rapportons un des essais effectués, en urine alcaline, avec la plus faible dose essayée, 0 gr. 25 par kilogramme, qui, au cours de deux précédents essais, avait fourni, dans un cas, aucun échantillon d'urine bactéricide, dans l'autre, un échantillon d'urine bactéricide (6 heures après l'ingestion) vis-à-vis du colibacille.

Lapin A, pesant 2 kgr. 960, nourri principalement de verdure pendant les deux jours précédant l'essai et ayant reçu, la veille de l'essai, 5 gr. de bicarbonate de sodium.

La dose à administrer était de :

$$0 \text{ gr. } 25 \times 2,960 = 0 \text{ gr. } 74 \text{ de sulfanilamide.}$$

Après sondage préliminaire de la vessie, l'animal a absorbé, au moyen de la sonde œsophagienne, la dose d'antiseptique mise en suspension dans 10 cm³ d'eau en présence de poudre de gomme arabique. Des sondages ont été effectués 2 heures, 4 heures, 6 heures, 8 heures et 24 heures après l'ingestion, et les échantillons d'urine traités comme il a été dit pour la mise en évidence des propriétés bactéricides et la mesure des variations du pH.

Les différents échantillons d'urine ont donné les résultats suivants :

Sondages	pH de l'urine	Subculture après contact de 24 h. à 37°	
		avec le colibacille	avec le staphylocoque doré
Préliminaire	7,4	+	+
Après 2 heures	7,6	+	+
Après 4 heures	> 7,6	0	+
Après 6 heures	> 7,6	0	+
Après 8 heures	> 7,6	+	+
Après 24 heures	7,6	+	+

+ = subcultures positives, donc l'urine ne présentait pas de propriétés bactéricides.

0 = subcultures négatives, donc l'urine présentait des propriétés bactéricides.

Dans cet essai, la dose de 0 gr. 25 par kilogramme de sulfanilamide s'est montrée légèrement active vis-à-vis du colibacille (subcultures négatives après 4 heures et 6 heures) et complètement inactive vis-à-vis du staphylocoque doré.

B. — Résultats.

Pour chaque composé, et pour chacun des germes (colibacille et staphylocoque doré), nous rapportons les résultats obtenus chez le lapin émettant des urines acides et chez le lapin émettant des urines alcalines.

1^o SULFANILAMIDE.

Nous avons traité 10 lapins auxquels ont été administrées, par voie buccale, les doses de 0 gr. 25, 0 gr. 35, 0 gr. 50 et 0 gr. 75. de para-aminobenzène-sulfonamide par kilogramme d'animal. Nous n'avons pas essayé de dose supérieure à 0 gr. 75, qui représente environ le 1/5 de la dose toxique pour le lapin.

a) *Pouvoir bactéricide vis-à-vis du colibacille.*

En *urine acide* au début de l'essai :

Avec une dose de 0 gr. 35 par kilogramme, nous avons observé, dans un seul essai (sur 3) un effet bactéricide pour les échantillons prélevés 4 heures, 6 heures et 24 heures après l'ingestion de la sulfanilamide.

Avec les doses de 0 gr. 50 et 0 gr. 75 par kilogramme, nous n'avons observé, par contre, aucun effet bactéricide pour les divers échantillons d'urine, au cours de plusieurs essais.

En *urine alcaline* pendant toute la durée de l'essai :

Nous avons toujours observé une action bactéricide pour un, deux ou trois échantillons d'urine, avec toutes les doses essayées. Cependant, l'ensemble des résultats a été assez irrégulier.

En effet, la dose de 0 gr. 25 par kilogramme a amené, dans un essai, l'émission d'un seul échantillon d'urine bactéricide (24 h. après l'ingestion) dans deux autres essais, l'émission de deux échantillons d'urine bactéricide (4 heures et 6 heures après l'ingestion).

De même, les doses de 0 gr. 35 et 0 gr. 50 par kilogramme ont permis d'obtenir au cours de quelques essais, deux et trois

échantillons d'urine bactéricide, donc une action assez nette.

Par contre, avec la dose de 0 gr. 75, les résultats ont été moins bons que ceux obtenus avec les doses inférieures précédentes (un ou deux échantillons d'urine bactéricide).

La dose active n'a pu être déterminée avec exactitude. Elle semble être voisine de 0 gr. 35 par kilogramme malgré quelques essais médiocres avec des doses supérieures.

En somme, l'action bactéricide de la para-aminobenzène-sulfonamide ou sulfanilamide, vis-à-vis du colibacille, par passage dans l'urine du lapin, est faible et inconstante en urine acide au début de l'essai, elle est beaucoup plus nette mais non régulière en urine alcaline.

b) *Pouvoir bactéricide vis-à-vis du staphylocoque doré.*

Les essais ont toujours été effectués simultanément vis-à-vis du staphylocoque doré et vis-à-vis du colibacille, donc, dans les mêmes conditions. Cependant, en urine alcaline comme en urine acide, et pour toutes les doses essayées (de 0 gr. 25 à 0 gr. 75 par kgr.), nous n'avons jamais pu constater un effet bactéricide à l'égard du staphylocoque doré.

Donc, dans les conditions de nos essais, la para-aminobenzène-sulfonamide n'a pas présenté de pouvoir bactéricide vis-à-vis du staphylocoque doré.

2° GLUCOSE SULFANILAMIDE.

Nous avons traité 13 lapins auxquels ont été administrées, par voie buccale, des doses de 0 gr. 50, 0 gr. 70, 1 gr. et 1 gr. 50 par kilogramme de glucose sulfanilamide, représentant respectivement 0 gr. 25, 0 gr. 35, 0 gr. 50 et 0 gr. 70 de sulfanilamide simple.

a) *Pouvoir bactéricide vis-à-vis du colibacille.*

En urine acide au début de l'essai :

Nous avons rarement observé, dans ces conditions, une action bactéricide nette. La dose de 0 gr. 70 (correspondant à 0 gr. 35 de sulfanilamide) a fourni, au cours d'un essai, un seul échantillon d'urine bactéricide.

La dose de 1 gr. (correspondant à 0 gr. 50 de sulfanilamide) a

fourni dans un essai, deux échantillons d'urine bactéricide, mais aucun résultat dans un autre essai.

Enfin, la dose de 1 gr. 50 (correspondant à 0 gr. 75 de sulfanilamide) n'a pas permis d'observer d'action bactéricide dans les échantillons d'urine recueillis.

En urine alcaline pendant toute la durée de l'essai :

Nous avons observé, dans tous les essais sauf un, une action bactéricide plus ou moins importante avec les échantillons d'urine recueillis après l'ingestion des doses citées précédemment.

Ainsi, la dose de 0 gr. 50 (correspondant à 0 gr. 25 de sulfanilamide) a amené, au cours de 3 essais, chez 3 lapins différents, l'émission de 2, 3 et 4 échantillons d'urine bactéricide.

Les doses de 0 gr. 70 et 1 gr. (correspondant respectivement à 0 gr. 35 et 0 gr. 50 de sulfanilamide) ont donné, au cours de 4 essais, des résultats tantôt nuls, tantôt limités à un ou deux échantillons d'urine bactéricide.

Enfin, la dose de 1 gr. 50 (correspondant à 0 gr. 75 de sulfanilamide) a amené, au cours de plusieurs essais, l'émission de trois échantillons successifs d'urine bactéricide.

En résumé, l'action bactéricide de la glucose sulfanilamide vis-à-vis du colibacille, par passage dans l'urine du lapin, est assez faible dans une urine acide au début de l'essai ; dans une urine alcaline, l'action est beaucoup plus nette, mais non régulière, puisqu'au cours des essais, des résultats marqués ont été obtenus avec des doses correspondant à 0 gr. 25 et 0 gr. 75 de sulfanilamide et des résultats nuls ou faibles avec des doses correspondant à 0 gr. 35 et 0 gr. 50 de sulfanilamide. En somme, comme pour la para-aminobenzène-sulfanilamide, la dose moyenne active, vis-à-vis du colibacille et dans une urine alcaline, semble voisine de 0 gr. 35 de sulfanilamide par kilogramme (c'est-à-dire 0 gr. 70 de glucose sulfanilamide).

b) Pouvoir bactéricide vis-à-vis du staphylocoque doré.

De même que pour la sulfanilamide, les essais de la glucose sulfanilamide ont toujours été effectués simultanément vis-à-vis du colibacille et vis-à-vis du staphylocoque doré, c'est-à-dire dans les mêmes conditions pour ces deux germes.

Cependant, pour aucune des doses essayées, allant de 0 gr. 50

à 1 gr. 50 de glucose sulfanilamide (c'est-à-dire de 0 gr. 25 à 0 gr. 75 de sulfanilamide) nous n'avons jamais pu constater un effet bactéricide vis-à-vis du staphylocoque doré, dans les échantillons d'urine recueillis après l'injection de la sulfamide.

Nous pouvons donc conclure que le staphylocoque doré n'est pas sensible à la glucose sulfanilamide (comme à la sulfanilamide elle-même) dans l'urine du lapin, dans les conditions de nos essais.

Nous avons résumé les résultats que nous venons d'exposer dans le tableau suivant, dans lequel les chiffres indiquent, en grammes par kilogramme de poids d'animal, les doses actives moyennes à l'égard de chaque germe considéré :

Doses actives par kilogramme de poids d'animal (exprimées en sulfanilamide)

	vis-à-vis du <i>colibacille</i>		vis-à-vis du <i>staphylocoque doré</i>	
	en urine acide	en urine alcaline	en urine acide	en urine alcaline
Sulfanilamide.....	$\geq 0,75$	vois. de 0,35	$> 0,75$	$> 0,75$
Glucose-sulfanilamide	$\geq 0,75$	vois. de 0,35	$> 0,75$	$> 0,75$

Temps d'apparition du pouvoir bactéricide de l'urine.

Les temps d'apparition du pouvoir bactéricide de l'urine les plus fréquemment observés ont été, dans le cas de deux échantillons bactéricides, soit 2 heures et 4 heures, soit 4 heures et 6 heures après l'ingestion, et, dans le cas de trois échantillons bactéricides, soit 2 heures, 4 heures et 6 heures, soit 4 heures, 6 heures et 8 heures après l'ingestion ; très rarement, un échantillon d'urine prélevé après 24 heures présentait un pouvoir bactéricide.

Il semble donc, par le seul essai bactéricide, que la plus forte élimination de l'antiseptique se situe 4 heures après l'absorption buccale. Nous en verrons la confirmation par l'étude de l'élimination.

Action diurétique des sulfamides.

Il nous a semblé, comparativement aux autres antiseptiques essayés auparavant, que la sulfanilamide et son dérivé glucosé augmentaient sensiblement la diurèse. Dans quelques cas, une émission d'urine particulièrement abondante a pu gêner l'action bactéricide en produisant une trop grande dilution de la sulfa-

nilamide excrétée. Ainsi, l'absence d'action bactéricide, dans l'essai d'une dose de 0 gr. 50 par kilogramme, chez un lapin dont l'urine avait présenté un pouvoir bactéricide marqué dans l'essai d'une dose inférieure, peut se justifier par une forte diurèse au cours du second essai.

C. — Conclusions.

Les résultats que nous venons d'énoncer ne semblent pas, à première vue, apporter de données très nettes sur l'action antiseptique des sulfamides *in vivo*, par leur passage dans l'urine.

Cependant, un examen plus attentif met en relief l'influence d'un certain nombre de facteurs dans la manifestation du pouvoir bactéricide.

1^o INFLUENCE DE DIVERS FACTEURS DANS L'ACTION BACTÉRICIDE.

a) *Influence des sulfamides essayées.*

La *sulfanilamide* et la *glucose sulfanilamide* paraissent avoir la même valeur antiseptique. En effet, si l'on tient compte de sa teneur en sulfanilamide, le dérivé glucosé a fourni des résultats semblables et même très légèrement supérieurs à ceux obtenus avec la sulfanilamide ordinaire.

b) *Influence des germes mis en expérience.*

Le *colibacille* s'est montré nettement, sinon constamment, sensible à la sulfanilamide et à son dérivé glucosé, dans l'urine du lapin. Par contre, le *staphylocoque doré* s'est montré tout à fait insensible à l'un et l'autre composé.

Ce sont donc les conditions de l'action vis-à-vis du colibacille que nous envisageons dans la suite de ces conclusions.

c) *Influence des variations individuelles des animaux.*

Il nous semble que l'absence de rapport, à première vue, entre les doses administrées et l'effet bactéricide constaté tient à de grandes variations individuelles chez les animaux utilisés. De telles variations s'observent, d'ailleurs, dans tous les essais *in vivo* et nous en avons déjà constatées lors de l'étude des dérivés

résorciniques ; elles nous ont paru particulièrement frappantes ici.

C'est ainsi qu'une dose de 0 gr. 25 de sulfanilamide par kilogramme a pu, chez la moitié des lapins, rendre l'urine manifestement bactéricide pour le colibacille, tandis qu'une dose de 0 gr. 75 par kilogramme ne s'est pas montrée active chez l'autre moitié.

Il est donc nécessaire d'examiner les résultats obtenus, aux différentes doses, pour chaque animal mis en expérience. Chez un même animal, le pouvoir bactéricide de l'urine apparaît alors grossièrement proportionnel aux doses administrées.

d) *Influence de la réaction de l'urine.*

Il nous a semblé que la réaction de l'urine influençait nettement l'action bactéricide, celle-ci étant beaucoup plus marquée dans une urine alcaline dès le début de l'essai que dans une urine acide. Le passage des sulfamides produit, d'ailleurs, ainsi que nous l'avons dit plus haut, une alcalinisation importante de l'urine.

D'une façon générale, dans les essais débutant avec un pH urinaire assez bas ($< 6,0$) nous n'avons jamais obtenu d'effet bactéricide net, bien que nous ayons constaté une rapide élévation de ce pH ($> 7,0$) dans les heures suivant l'ingestion de l'un ou l'autre composé.

Sur un même lapin, une même dose s'est montrée beaucoup plus active dans une urine alcaline que dans une urine acide.

2° DOSES ACTIVES VIS-A-VIS DU COLIBACILLE.

La dose de sulfamide active à l'égard du colibacille (c'est-à-dire la quantité de substance, exprimée en grammes par kilogramme de poids d'animal, qui, administrée au lapin, par voie buccale, rend bactéricides pour ce germe au moins trois échantillons successifs d'urine sur les cinq prélèvements effectués 2 heures, 4 heures, 6 heures, 8 heures et 24 heures après l'absorption de l'antiseptique), est difficile à déterminer en raison de l'intervention des facteurs que nous venons de signaler.

Une dose active moyenne pourrait être établie à condition d'éprouver chaque dose sur un nombre suffisant d'animaux.

Nous n'avons pu, dans les circonstances actuelles, réaliser de tels essais.

Quoi qu'il en soit, nous pouvons estimer que la para-amino-benzène sulfonamide, ou sulfanilamide ordinaire, de même que son dérivé glucosé, lorsqu'elles sont administrées par voie buccale au lapin, à des doses variant de 0 gr. 25 à 0 gr. 75 de sulfanilamide par kilogramme, sont capables de rendre l'urine bactéricide à l'égard du colibacille, mais non à l'égard du staphylocoque doré.

Le dérivé glucosé, compte tenu de sa correspondance en sulfanilamide, présente une valeur antiseptique égale et même très légèrement supérieure à celle de la sulfanilamide elle-même.

CHAPITRE II

Elimination urinaire de la sulfanilamide et de la glucose sulfanilamide.

La recherche du pouvoir bactéricide conféré à l'urine, chez le lapin, par l'absorption de la sulfanilamide et de son dérivé glucosé, a été complétée, dans ce travail, par celle de l'élimination de ces deux composés au cours de ces mêmes essais de l'action antiseptique.

Avant de rapporter nos résultats, nous exposerons les notions essentielles déjà connues sur l'absorption et l'élimination de la para-aminobenzène-sulfonamide.

Données bibliographiques sur l'absorption et l'élimination de la para-aminobenzène-sulfonamide.

L'absorption, la répartition et l'élimination des sulfamides chez divers animaux et chez l'homme, ont été étudiées initialement par des auteurs américains, FULLER (216) d'une part, MARSHALL, CUTTING et EMERSON (266, 267, 268, 269, 271 et 272), d'autre part, qui ont donné les premières techniques de détermination de ces corps dans les milieux organiques.

1) ABSORPTION ET RÉPARTITION

Quelle que soit la voie d'introduction, la para-aminobenzène-sulfonamide est très rapidement absorbée et distribuée par la circulation dans tout l'organisme où on la retrouve à l'état libre ou à l'état conjugué (dérivé acétylé). MARSHALL a démontré

que l'absorption par le trajet gastro-intestinal était presque complète en 4 heures. Chez le chien, la concentration du sang en sulfamide s'accroît plus rapidement après administration buccale qu'après injection sous-cutanée ou intra-musculaire : ainsi, après l'ingestion de 0 gr. 10 par kilogramme, la concentration sanguine est de 12 mgr. pour 100 cm³, et après ingestion de 0 gr. 20 par kilogramme, elle varie de 5,8 à 19,8 mgr. De même, chez l'homme normal, la concentration sanguine, après administration buccale croît rapidement au cours des deux premières heures, atteint un maximum vers la quatrième heure, puis décroît lentement (MARSHALL (266 et 268), LUCAS et MITCHELL (256), ALYEA, DANIEL et YATES (184)); chez les enfants, la concentration maxima est atteinte déjà en moins d'une heure. MARSHALL et ses collaborateurs (266) ont obtenu, chez l'homme, après ingestion de 3 gr. à 4 gr. 80 de sulfanilamide, une concentration sanguine variant de 3, 6 mgr. à 12 mgr. %. LUCAS (255), après administration buccale de doses de 1 gr., 2 gr. et 3 gr. de sulfanilamide a rarement obtenu une concentration supérieure à 5 mgr. %. Ces auteurs ont observé que la teneur du sang en sulfamide n'était pas directement proportionnelle à la dose administrée et qu'elle n'était pas influencée par l'absorption de liquides.

Cependant, la teneur du sang en sulfamide est plus élevée chez les néphrétiques (ALYEA, DANIEL et YATES (184)) aux dépens évidemment de l'élimination urinaire.

L'absorption de la sulfanilamide se fait de même très facilement par la voie rectale : administrée au lapin et à l'homme (GORDOWSKI (223), NERB, TURELL et MARINO (281)) sous forme de capsules de gélatine, de suppositoires de beurre de cacao ou de lavements fractionnés, la sulfanilamide passe rapidement dans le sang qui atteint, dans les 3 heures suivantes, une concentration égale (GORDOWSKI) ou même supérieure (NERB et ses collaborateurs) à celles obtenues par administration perorale ; la voie rectale peut ainsi assurer, par une résorption lente et régulière, une concentration sanguine stable.

Dans le sang, à l'inverse de ce qu'on constate dans l'urine, la plus grande partie de la sulfanilamide serait à l'état libre (70 à 80 % de la sulfonamide totale) et fixée dans les éléments cellulaires plutôt que dans le plasma (SISE (305), HANSEN (228)).

FULLER (216), MARSHALL (266) et après eux d'autres auteurs,

dont VONKENNEL et SCHMIDT (319) ont signalé le passage très rapide de la para-aminobenzène-sulfonamide à travers les méninges. Après administration buccale, le liquide céphalo-rachidien présente une concentration parallèle et légèrement inférieure à celle du sang : MARSHALL (268) a trouvé, chez le chien, après ingestion de 0 gr. 10 par kilogramme de sulfanilamide, une concentration de 7 mgr. % dans le liquide céphalo-rachidien et 12 mgr. % dans le sang. Une teneur intra-rachidienne élevée (10 à 16 mgr. %) peut-être obtenue par injection intra-thécale (NETER, WEINTRAUB et DAYMAN (283)), la teneur du sang restant relativement faible (1 mgr. %).

Dans les divers tissus, à l'exception de la graisse et des os, la sulfamide se répartit assez uniformément, ainsi que l'ont constaté MARSHALL, CUTTIG et EMERSON (268) chez le chien. Des observations analogues ont été faites par CHABROL, COTTET et SALLET (195) sur des chiens sacrifiés 1 heure, 2 heures ou 3 heures après injection intra-veineuse de 1162 F : la teneur en sulfamide du foie, des reins, des muscles, de la prostate et de la rate était sensiblement la même, et comparable d'ailleurs à la teneur du sang ; les variations d'un animal à l'autre dépendaient surtout de la dose injectée et du temps de survie. Le parenchyme nerveux ne paraît pas fixer beaucoup de sulfamide (RISER et VALDIGUIE (296)) : même après administration prolongée, on trouve dans le cerveau une quantité appréciable de sulfamide, libre ou combinée, mais toujours inférieure à celle trouvée dans le tissu musculaire.

Les dérivés sulfamidés ont été décelés, en outre, par VENCO (318), chez l'homme dans le liquide lacrymal, chez le lapin dans l'humeur aqueuse et dans le corps vitré, 2 à 3 heures après leur administration *per os*.

Enfin, le passage à travers le placenta, signalé par de nombreux auteurs (BARKER (185), SPEERT (306), LEE, ANDERSON et CHEN (247), ADAIRE, HESSELTINE et HAC (183), DIGONNET (202)), réalise dans le sang du fœtus une concentration identique à celle du sang maternel.

2) ÉLIMINATION

L'élimination de la para-aminobenzène-sulfonamide ou sulfanilamide s'effectue essentiellement par les urines. Le rein

présente, vis-à-vis des sulfamides introduites dans la circulation, un pouvoir de concentration tel que la teneur en sulfamide des urines peut être 50 fois plus élevée que celle du sang (CHABROL, COTTET et SALLET (195)).

Les caractéristiques de cette élimination ressortent de l'expérimentation effectuée sur les mammifères et des observations recueillies au cours de la sulfamidothérapie.

Chez la souris, FULLER (216) retrouva dans les urines de 24 heures, les 2/3 de la sulfamide injectée (1 gr. par kgr.) dans le cas des animaux normaux, et la moitié seulement dans le cas des animaux infectés : les concentrations de l'urine en sulfamide libre variaient de 130 à 400 mgr. pour 100 cm³. Chez le chien, MARSHALL (267) constata une élimination presque complète par les urines en 24 à 48 heures ; les concentrations en sulfanilamide, encore plus élevées ici que chez la souris, variaient de 269 à 910 mgr. pour 100 cm³ après administration d'une dose de 0 gr. 20 par kilogramme.

Chez l'homme, de même, l'élimination est rapide et presque totale par les urines. Après administration de doses uniques, elle atteint 55 à 60 % en 24 heures (LUCAS (255), STENWART, ROURKE et ALLEN (309), SCUDI et RATISH (302)). Après ingestion de 3 gr. à 4 gr. 80 de sulfanilamide, la concentration de l'urine des 24 heures oscille de 55 à 196 mgr. % (MARSHALL et ses collaborateurs (266)).

En suivant la marche de cette élimination, on observe que l'excrétion urinaire, parallèlement à la concentration sanguine, augmente d'abord rapidement pendant les 4 premières heures, puis elle diminue et présente à nouveau un maximum au bout de 12 heures (LUCAS et MITCHELL (256)). Chez les enfants, dans l'urine, de même que dans le sang, la concentration maxima apparaît en moins d'une heure. L'élimination est pratiquement terminée en 72 heures (MARSHALL (266), GORDOWSKI (223)). Lorsque de grandes quantités de sulfamide sont administrées quotidiennement, en doses fractionnées, on peut retrouver dans l'urine 100 % de ce composé dès que l'équilibre entre l'entrée et la sortie du médicament est établi ; MARSHALL estime à 2 ou 3 jours le temps nécessaire pour réaliser cet équilibre.

Normalement, l'élimination de la sulfanilamide représenterait environ 36 % de celle de l'urée et 20 % de celle de la créatinine ; elle diminue en cas de lésion rénale et ces rapports ne sont plus

valables (MARSHALL et ses collaborateurs (267), GREEN et ALLISON (221), ALYEA, DANIEL et YATES (184)).

L'ingestion de liquides provoque une accélération de l'élimination (MARSHALL (265)) : elle influe sur la concentration dans l'urine mais non sur la quantité éliminée (ALYEA, DANIEL et YATES (184)). Si le volume d'urine devient très réduit, il peut se produire une précipitation de la sulfamide, ce qui rendrait possible la formation de calculs dans les voies urinaires (STENWART, ROURKE et ALLEN (309)).

La forme d'excrétion de la sulfanilamide (libre ou conjuguée) varie selon les organismes et pour un même organisme, selon le moment.

La sulfanilamide est excrétée à l'état inchangé chez le chien, mais chez la souris, chez le lapin et chez l'homme, la plus grande partie se trouve à l'état conjugué (dérivé acétylé) (FULLER (216), MARSHALL (266 et 269)). FULLER avait retrouvé chez la souris 61 % de sulfanilamide excrétée à l'état libre. Chez l'homme, la proportion de sulfanilamide libre, assez notable dans les premières heures de l'élimination, diminue ensuite à l'avantage de la forme combinée qui représente, au bout de 24 heures, environ 75 % de l'élimination de la sulfamide totale (LUCAS et MITCHELL (256), SCUDI et RATISH (302), HANSEN (228)), de sorte qu'au cours d'un traitement poursuivi, il s'élimine 40 à 60 % de sulfamide inactive. L'administration, par voie rectale, en produisant une rétention plus longue de la sulfamide dans l'organisme, amènerait dans l'urine une proportion de forme libre beaucoup plus forte qu'après administration buccale (GORDOWSKI (223)).

A côté de l'excrétion rénale, voie essentielle de l'élimination, une petite quantité de sulfanilamide passe dans les diverses sécrétions. Soit chez le chien, soit chez l'homme, dans les premières heures suivant l'absorption, elle a été décelée et évaluée dans la salive, dans le suc gastrique, dans la bile et dans le suc pancréatique par HUG (241) et par CARRIER et IVY (194), dans le liquide prostatique par HUG (241) et par FARREL, LYMAN et YOUNG (209), dans le sang menstruel et dans le lait par ADAIRE, HESSELTINE et HAC (183). La concentration de la sulfanilamide dans la salive est assez basse (7 mgr. %) et représente de 53 à 102 % de celle du sang ; dans le suc gastrique, elle est relativement élevée (25 à 50 mgr. %), dans le suc pancréatique,

elle est strictement parallèle et légèrement inférieure (73 à 77 %) à celle du sang. Dans la bile, la sulfanilamide n'apparaît que lorsque la concentration du sang atteint un certain seuil (BETTMANN et SPIER (187), CARRIER et IVY (194)). Dans le lait, ADAIRE et ses collaborateurs (183) ont trouvé une teneur en sulfamide plus élevée que dans le sang ; cependant, PINTO (288) estime qu'aux doses thérapeutiques cette excrétion est trop faible pour présenter un danger pour un nourrisson normal.

Quelques données sur l'excrétion de la sulfanilamide chez les Vertébrés inférieurs ont été apportées par LITCHFIELD (252). Il a constaté, principalement sur *Rana catesbiana*, une excrétion urinaire très lente, ce qui s'explique par la petite quantité de filtrat glomérulaire de ces animaux. La sulfanilamide est éliminée à l'état libre chez la grenouille, à l'état conjugué chez le poisson et chez le poulet.

ESSAIS PERSONNELS

Nous avons effectué l'étude de l'élimination de la para-aminobenzène-sulfonamide et de son dérivé glucosé, chez le lapin, au cours des essais de l'action bactéricide, par le dosage de la sulfamide libre, conjuguée et totale, dans la totalité des urines émises en 48 heures, après administration buccale de doses variées.

Ces évaluations nous ont renseigné :

1^o Sur l'*élimination proprement dite* : le taux d'élimination de la sulfamide à divers moments après l'ingestion de doses variées, et la marche de cette élimination sous les deux formes, libre et conjuguée.

2^o Sur l'*élimination en liaison avec l'action bactéricide* de l'urine.

Nous exposerons successivement :

la technique utilisée pour le dosage de la sulfamide ;

le détail des essais ;

l'interprétation des résultats.

A. — Technique de dosage de la sulfanilamide dans l'urine.

Nous avons utilisé la méthode, maintenant classique, proposée initialement par MARSHALL (263) pour la recherche et le dosage des sulfamides dans l'urine et dans les liquides organiques et légèrement modifiée par cet auteur (BRATTON et MARSHALL (189 *bis*)) et par divers chimistes.

Elle consiste essentiellement à former un diazoïque par action de l'acide nitreux sur la fonction amine de la sulfamide, puis à copuler le diazoïque formé avec un composé phénolique, ce qui conduit à une matière colorante. Celle-ci se prête à un dosage colorimétrique par comparaison avec une gamme obtenue à partir d'une solution étalon de sulfanilamide.

1^o RÉACTIFS UTILISÉS.

Pour former le composé coloré, nous avons utilisé au lieu du réactif de MARSHALL (dichlorhydrate de naphthyl-éthylène diamine), le réactif IV de FOURNEAU (monochlorhydrate de α naphthyl-diéthylpropylène diamine) qui a l'avantage de donner une coloration stable pendant plusieurs heures à la lumière et pendant 24 à 48 heures à l'obscurité et à la glacière.

Les solutions des différents réactifs sont les suivantes :

1^o solution aqueuse d'acide trichloracétique à 15 % ;

2^o solution aqueuse de nitrite de sodium à 0 gr. 10 % (fraîchement préparée) ;

3^o solution aqueuse de sulfamate d'ammonium à 0 gr. 50 % ;

4^o réactif de FOURNEAU : solution aqueuse de α naphthyl-diéthylpropylène diamine (monochlorhydrate) à 0 gr. 10 % (conservée en flacons jaunes) ;

5^o acide chlorhydrique 4 N ;

6^o solution étalon de sulfamide : une solution mère de para-aminobenzène sulfonamide) à 20 mgr. % dans l'eau distillée, est conservée à la glacière. La solution étalon à 1 mgr. % se prépare au moment du besoin en diluant 20 fois la solution mère.

2^o TECHNIQUE PROPREMENT DITE.

a) Préparation de la gamme étalon.

Dans une série de 10 tubes à essai, de même diamètre, on introduit :

Solution étalon	Eau distillée	Sulfamide % cm ³
0 cm ³ 5	9 cm ³ 5	= 0 mgr. 5
1 cm ³	9 cm ³	= 1 mgr.
2 cm ³	8 cm ³	= 2 mgr.
3 cm ³	7 cm ³	= 3 mgr.
4 cm ³	6 cm ³	= 4 mgr.
5 cm ³	5 cm ³	= 5 mgr.
6 cm ³	4 cm ³	= 6 mgr.
7 cm ³	3 cm ³	= 7 mgr.
8 cm ³	2 cm ³	= 8 mgr.
10 cm ³	0 cm ³	= 10 mgr.

On ajoute dans chaque tube :

2 cm³ d'acide trichloracétique à 15 % ;

1 cm³ de nitrite de sodium à 0,10 %. On agite ; après 3 minutes on ajoute : 1 cm³ de sulfamate d'ammonium à 0,50 %. On agite ; après 2 minutes on ajoute : 1 cm³ de solution de chlorhydrate de naphtyl-diéthylpropylène diamine à 0,10 %. On agite et on laisse à l'obscurité.

Cette gamme, à l'abri de la lumière et à la glacière, peut se conserver de 24 à 48 heures.

b) Mode opératoire dans l'urine.

L'urine pouvant contenir des quantités importantes de sulfamide doit être diluée afin que la teinte obtenue rentre dans les limites de la gamme (de 1 à 10 mgr. pour 100 cm³). Pour cela, une réaction préalable, effectuée sur l'urine pure, peut renseigner sur la concentration approximative (en diluant la teinte obtenue dans l'eau distillée), et permet de fixer la dilution convenable de l'urine (10, 20, 50 et même 100 fois).

On peut doser directement la sulfamide libre et après hydrolyse, la sulfamide totale (libre et conjuguée).

α) Dosage de la sulfanilamide libre : dans un tube à essai, de même diamètre que les tubes de la gamme, on introduit :

1 cm³ d'urine diluée ;

9 cm³ d'eau distillée, et on ajoute les réactifs comme pour la préparation des tubes étalons ;

5 minutes après l'addition de la solution de naphthyl-diéthylpropylène diamine, on compare la coloration obtenue avec celles de la gamme.

Pour obtenir le nombre de milligrammes de sulfamide contenus dans 100 cm³ d'urine, on multiplie le nombre de milligrammes contenus dans le tube étalon correspondant par la dilution de l'urine, puis par 100.

β) *Dosage de la sulfanilamide totale* : on hydrolyse par l'acide chlorhydrique la sulfamide se trouvant à l'état de dérivé conjugué. Pour cela, on ajoute à 2 cm³ d'urine, 0 cm³ 5 de CHH 1 N et 1 cm³ 5 d'eau distillée. On place 1/2 heure au bain marie bouillant. Après refroidissement, on amène l'urine à dilution convenable et on opère comme précédemment.

La différence entre les deux dosages donne la quantité de sulfanilamide conjuguée.

Cette méthode de dosage est applicable à la glucose sulfanilamide, après hydrolyse chlorhydrique. Pratiquement, nous verrons que le dosage direct effectué sur l'urine (sans hydrolyse préalable) révèle une quantité de sulfamide libre égale environ à celle dosée après l'ingestion de la sulfanilamide ordinaire.

La technique précédente nous a permis de suivre l'élimination de la para-aminobenzène sulfonamide et de son dérivé glucosé, en même temps que la manifestation du pouvoir bactéricide de l'urine, après administration au lapin, par voie buccale, de ces composés.

Pour cela, les dosages ont porté, non seulement sur les échantillons d'urine obtenus par sondage du lapin après 2 heures, 4 heures, 6 heures, 8 heures et 24 heures, mais encore sur les urines recueillies dans la cage de l'animal dans les intervalles de 8 à 24 heures et de 24 à 48 heures après l'ingestion.

Ces dosages nous ont donné pour la sulfamide libre, conjuguée et totale, les concentrations atteintes dans l'urine et les quantités éliminées 2 heures, 4 heures, 6 heures, 8 heures, 24 heures et 48 heures après l'ingestion de doses variées.

Pour chaque dose, un, deux ou trois essais ont été réalisés.

Nous allons en donner le détail.

B. — Détail des essais.

1^o ELIMINATION DE LA PARA-AMINOENZÈNE SULFONAMIDE OU SULFANILAMIDE.

L'élimination a été étudiée, au cours de 7 essais, pour les doses de 0 gr. 25, 0 gr. 35, 0 gr. 50 et 0 gr. 75 de para-aminobenzène sulfonamide ou sulfanilamide par kilogramme.

1^{er} essai : 0 gr. 25 par kilogramme.

Lapin C. Poids : 2 kgr. 660.

Sulfanilamide ingérée : 660 mgr.

	Volume de l'urine recueillie en cm ³	Concentrations en mgr. pour 100 cm ³			Quantités éliminées en mgr. pour 100 cm ³		
		libre	Sulfamide conjuguée	totale	libre	Sulfamide conjuguée	totale
Après 2 h. ...	60	50	10	60	30	6	36
Après 4 h. ...	36	120	20	140	44	15	59
Après 6 h. ...	16	80	20	100	13	3	16
Après 8 h. ...	15	40	20	60	6	3	9

Taux d'élimination :

En 8 heures : 17 % de la sulfamide ingérée (14 % à l'état libre, 3 % à l'état conjugué).

L'action bactéricide a été constatée aux heures 4, 6 et 8.

2^e essai : 0 gr. 25 par kilogramme.

Lapin A. Poids : 3 kgr.

Sulfanilamine ingérée : 750 mgr.

	Volume de l'urine recueillie en cm ³	Concentrations en mgr. pour 100 cm ³			Quantités éliminées en mgr. pour 100 cm ³		
		libre	Sulfamide conjuguée	totale	libre	Sulfamide conjuguée	totale
Après 2 h. ...	30	80	25	105	32	8	40
Après 4 h. ...	32	140	40	180	45	12,5	57,5
Après 6 h. ...	15	60	90	150	9	13,5	22,5
Après 8 h. ...	16	40	110	150	6,5	17,5	24
De 8 à 24 h..	110	1	124	125	1	136,5	137,5
Après 24 h. ..	3	0,5	124,5	125	0	3,5	3,5
De 24 à 48 h. .	150	0,5	59,5	60	0,7	89,5	90
Après 48 h. . .	10	<0,5	30	30	0	3	3

Taux d'élimination :

En 8 h. : 19,2 % de la sulfamide ingérée (12,3 % à l'état libre, 6,9 % à l'état conjugué).

En 24 h. : 38 % de la sulfamide ingérée (12,4 % à l'état libre, 25,6 % à l'état conjugué).

En 48 h. : 50,4 % de la sulfamide ingérée (12,7 % à l'état libre, 37,7 % à l'état conjugué).

L'action bactéricide a été constatée aux heures 4 et 6.

3^e essai : 0 gr. 35 par kilogramme.

Lapin C. Poids : 2 kgr. 460.

Sulfanilamide ingérée : 860 mgr.

	Volume de l'urine recueillie en cm ³	Concentrations en mgr. pour 100 cm ³			Quantités éliminées en mgr. pour 100 cm ³		
		libre	Sulfamide conjuguée	totale	libre	Sulfamide conjuguée	totale
Après 2 h. ...	27	120	80	200	32	22	54
Après 4 h. ...	15	250	375	625	37,5	56,5	94
Après 6 h. ...	20	200	550	750	40	110	150
Après 8 h. ...	17	125	500	625	22,5	90	112,5
Après 24 h. ..	105	20	330	350	21	346,5	367,5
Après 48 h. ..	75	0,5	34,5	35	0,5	25,5	26

Taux d'élimination :

En 8 h. : 47 % de la sulfamide ingérée (15 % à l'état libre, 32 % à l'état conjugué).

En 24 h. : 90 % de la sulfamide ingérée (17,8 % à l'état libre, 72,2 % à l'état conjugué).

En 48 h. : 93 % de la sulfamide ingérée (18,5 % à l'état libre, 74,5 % à l'état conjugué).

L'action bactéricide a été constatée aux heures 4, 6, 8 et 24.

4^e essai : 0 gr. 35 par kilogramme.

Lapin D. Poids : 2 kgr. 820.

Sulfanilamide ingérée : 980 mgr.

	Volume de l'urine recueillie en cm ³	Concentrations en mgr. pour 100 cm ³			Quantités éliminées en mgr. pour 100 cm ³		
		libre	Sulfamide conjuguée	totale	libre	Sulfamide conjuguée	totale
Après 2 h. ...	10	100	250	350	10	25	35
Après 4 h. ...	16	150	600	750	24	96	120
Après 6 h. ...	15	75	675	750	11	101,5	112,5
Après 8 h. ...	15	50	575	625	7,5	86,5	94
De 8 à 24 h. ...	120	10	190	200	12	228	240
De 24 à 48 h. ..	100	0,5	49,5	50	0,5	49,5	50
Après 48 h. ..	8	<0,5	29,5	30	0	2,5	2,5

Taux d'élimination :

En 8 h. : 36 % de la sulfamide ingérée (5,3 % à l'état libre, 30,7 % à l'état conjugué).

En 24 h. : 61 % de la sulfamide ingérée (6,5 % à l'état libre, 54,5 % à l'état conjugué).

En 48 h. : 66 % de la sulfamide ingérée (6,6 % à l'état libre, 59,4 % à l'état conjugué).

L'action bactéricide a été constatée à l'heure 4.

5^e essai : 0 gr. 50 par kilogramme.

Lapin C. Poids : 2 kgr. 050.

Sulfanilamide ingérée : 1.050 mgr.

	Volume de l'urine recueillie en cm ³	Concentrations en mgr. pour 100 cm ³			Quantités éliminées en mgr. pour 100 cm ³		
		libre	Sulfamide conjuguée	totale	libre	Sulfamide conjuguée	totale
Après 2 h. ...	15	280	220	500	42	33	75
Après 4 h.	12	400	400	800	48	58	96
Après 6 h. ...	10	350	850	1200	35	85	120
Après 8 h. ...	10	350	650	1000	30	70	100
De 8 à 24 h. ..	80	35	245	280	28	196	224
Après 24 h. ..	6	15	205	320	1	19	20
De 24 à 48 h. .	non recueillie						
Après 48 h. ..	30	2,5	77,5	80	< 1	1,5	2,5

Remarque : les échantillons d'urine recueillis après 4 heures, 6 heures et 8 heures présentaient un précipité cristallin.

Taux d'élimination :

En 8 h. : 37 % de la sulfamide ingérée (14,7 % à l'état libre, 22,3 % à l'état conjugué).

En 24 h. : 60 % de la sulfamide ingérée (17,5 % à l'état libre, 42,5 % à l'état conjugué).

L'action bactéricide n'a été constatée à aucun moment.

6^e essai : 0 gr. 75 par kilogramme.

Lapin B. Poids : 2 kgr. 330.

Sulfanilamide ingérée : 1.750 mgr.

	Volume de l'urine recueillie en cm ³	Concentrations en mgr. pour 100 cm ³			Quantités éliminées en mgr. pour 100 cm ³		
		libre	Sulfamide conjuguée	totale	libre	Sulfamide conjuguée	totale
Après 2 h. ...	30	80	70	150	24	21	45
Après 4 h. ...	75	160	140	300	120	105	225
Après 6 h. ...	25	320	480	800	80	120	200
Après 8 h. ...	60	120	280	400	72	168	240
De 8 à 24 h. .	75	120	230	350	90	172,5	262,5
Après 24 h. .	15	8	132	140	1,2	20	21
De 24 à 48 h. .	100	4	56	60	4	56	60
Après 48 h. .	40	1	39	40	0,5	15,5	16

Remarque : l'échantillon d'urine recueilli après 6 heures présentait un précipité cristallin de sulfamide.

Taux d'élimination :

En 8 h. : 40,5 % de la sulfamide ingérée (17 % à l'état libre, 23,5 % à l'état conjugué).

En 24 h. : 56,7 % de la sulfamide ingérée (22 % à l'état libre, 34,7 % à l'état conjugué).

En 48 h. : 61,1 % de la sulfamide ingérée (22,3 % à l'état libre, 38,8 % à l'état conjugué).

L'action bactéricide a été observée aux heures 4 et 6.

7^e essai : 0 gr. 75 par kilogramme.

Lapin F. Poids : 2 kgr. 550.

Sulfanilamide ingérée : 1.910 mgr.

	Volume de l'urine recueillie en cm ³	Concentrations en mgr. pour 100 cm ³			Quantités éliminées en mgr. pour 100 cm ³		
		libre	Sulfamide conjuguée	totale	libre	Sulfamide conjuguée	totale
Après 2 h. ...	35	200	200	400	70	70	140
Après 4 h. ...	10	240	560	800	24	56	80
De 4 à 8 h. ...	10	320	380	700	32	38	70
Après 6 h. ...	22	240	560	800	53	123	176
Après 8 h. ...	70	100	300	400	70	210	280
De 8 à 24 h. .	200	60	240	300	120	480	600
Après 24 h. .	15	2,5	157,5	160	0,4	23,6	24
De 24 à 48 h. .	130	8	62	70	10,4	80,6	91
Après 48 h. .	5	1	39	40		2	2

Remarque : les échantillons d'urine recueillis après 4 heures, de 4 à 6 heures et après 6 heures, présentaient un précipité cristallin de sulfamide.

Taux d'élimination :

En 8 h. : 39,2 % de la sulfamide ingérée (13,1 % à l'état libre, 26,1 % à l'état conjugué).

En 24 h. : 72,1 % de la sulfamide ingérée (19,4 % à l'état libre, 52,7 % à l'état conjugué).

En 48 h. : 77,1 % de la sulfamide ingérée (20 % à l'état libre, 57,1 % à l'état conjugué).

Une *action bactéricide* légère a été observée à l'heure 4.

2^o ELIMINATION DE LA GLUCOSE SULFANILAMIDE.

L'élimination a été étudiée au cours de 7 essais effectués avec les doses de 0 gr.50, 0 gr. 70, 1 gr. et 1 gr. 50 de glucose sulfanilamide, correspondant respectivement à 0 gr. 25, 0 gr. 35, 0 gr. 50 et 0 gr. 75 de sulfanilamide.

Tous les chiffres sont exprimés en sulfanilamide.

1^{er} **essai : 0 gr. 50** par kilogramme (0 gr. 25 de sulfanilamide).

Lapin C. Poids : 2 kgr. 650.

Sulfanilamide ingérée : 660 mgr.

	Volume de l'urine recueillie en cm ³	Concentrations en mgr. pour 100 cm ³			Quantités éliminées en mgr. pour 100 cm ³		
		libre	Sulfamide conjuguée	totale	libre	Sulfamide conjuguée	totale
Après 2 h. ...	50	60	60	120	30	30	60
Après 4 h. ...	25	100	350	450	25	90	115
Après 6 h. ...	22	100	400	500	22	88	110
Après 8 h. ...	19	50	550	600	10	110	120
Après 24 h. ..	97	10	140	150	10	140	150
De 24 à 48 h. .	50	1	29	30	0,5	14,5	15
Après 48 h. ..	220	1	19	20	2,2	2	4,2

Taux d'élimination :

En 8 h. : 61 % de la sulfamide ingérée (13 % à l'état libre, 48 % à l'état conjugué).

En 24 h. : 84 % de la sulfamide ingérée (14,6 % à l'état libre, 69,4 % à l'état conjugué).

En 48 h. : 92 % de la sulfamide ingérée (15 % à l'état libre, 77 % à l'état conjugué).

L'*action bactéricide* a été observée aux heures 4, 6, 8 et 24.

2^e essai : 0 gr. 50 par kilogramme (0 gr. 25 de sulfanilamide).
Lapin A. Poids : 2 kgr. 670.
Sulfanilamide ingérée : 675 mgr.

	Volume de l'urine recueillie en cm ³	Concentrations en mgr. pour 100 cm ³			Quantités éliminées en mgr. pour 100 cm ³		
		libre	Sulfamide conjuguée	totale	libre	Sulfamide conjuguée	totale
Après 2 h. ...	25	100	250	350	25	65	90
Après 4 h. ...	20	100	600	700	20	120	140
Après 6 h. ...	15	70	730	800	10,5	109,5	120
Après 8 h. ...	12	10	590	600	1,2	70,8	72
De 8 à 24 h. ..	50	3	147	150	1,5	73,5	75
Après 24 h. ..	40	2	198	200	0,8	79,2	80
Après 48 h. ..	140	<0,5	34,5	35	0,6	48,4	49

Taux d'élimination :

En 8 h. : 62,5 % de la sulfamide ingérée (8,4 % à l'état libre, 54,1 % à l'état conjugué).

En 24 h. : 85 % de la sulfamide ingérée (8,7 % à l'état libre, 76,3 % à l'état conjugué).

En 48 h. : 92 % de la sulfamide ingérée (8,7 % à l'état libre, 83,3 % à l'état conjugué).

Une action bactéricide légère a été observée après 2 heures, et une action plus marquée aux heures 4, 6 et 8.

3^e essai : 0 gr. 70 par kilogramme (0 gr. 35 de sulfanilamide).
Lapin E. Poids : 2 kgr. 060.
Sulfanilamide ingérée : 720 mgr.

	Volume de l'urine recueillie en cm ³	Concentrations en mgr. pour 100 cm ³			Quantités éliminées en mgr. pour 100 cm ³		
		libre	Sulfamide conjuguée	totale	libre	Sulfamide conjuguée	totale
Après 2 h. ...	60	40	85	125	24	51	75
Après 4 h. ...	10	20	130	150	2	13	15
Après 6 h. ...	17	60	440	500	12	88	100
Après 8 h. ...	27	10	280	300	6	84	
De 8 à 24 h. ..	70	0,5	240	250	7	168	175
Après 24 h. ..	50	1	99,5	100		5	5
De 24 à 48 h. .	125		34	35	1,25	42,75	44

Remarque : les urines recueillies après 4 heures et 6 heures présentaient un précipité cristallin de sulfamide.

Taux d'élimination :

En 8 h. : 40 % de la sulfamide ingérée (6,2 % à l'état libre, 33,8 % à l'état conjugué).

En 24 h. : 64 % de la sulfamide ingérée (7 % à l'état libre, 57 % à l'état conjugué).

En 48 h. : 70 % de la sulfamide ingérée (7,2 % à l'état libre, 62,8 % à l'état conjugué).

Une action bactéricide a été observée après 2 heures.

4^e essai : 0 gr. 70 par kilogramme (0 gr. 35 de sulfanilamide).

Lapin F. Poids : 2 kgr. 550.

Sulfanilamide ingérée : 900 mgr.

	Volume de l'urine recueillie en cm ³	Concentrations en mgr. pour 100 cm ³			Quantités éliminées en mgr. pour 100 cm ³		
		libre	Sulfamide conjuguée	totale	libre	Sulfamide conjuguée	totale
Après 2 h. ...	30	120	230	350	35	65	100
Après 4 h. ...	25	160	590	750	40	150	190
Après 6 h. ...	20	120	630	200	24	126	150
Après 8 h. ...	45	20	180	150	9	81	90
De 8 à 24 h. ..	140	6	144	20	8,5	201,5	210
Après 24 h. ..	7	1	19	30	0	<2	<2
De 24 à 48 h. .	175	1	29		1,75	50,25	52

Remarque : les urines recueillies après 4 heures et 6 heures présentaient un dépôt cristallin.

Taux d'élimination :

En 8 h. : 58,8 % de la sulfamide ingérée (12 % à l'état libre, 46,8 % à l'état conjugué).

En 24 h. : 82 % de la sulfamide ingérée (12,8 % à l'état libre 69,2 % à l'état conjugué).

En 48 h. : 88 % de la sulfamide ingérée (13 % à l'état libre, 75 % à l'état conjugué).

Une action bactéricide légère a été observée après 4 heures.

5^e essai : 0 gr. 70 par kilogramme (0 gr. 35 de sulfanilamide).

Lapin B. Poids : 2 kgr. 350.

Sulfanilamide ingérée : 825 mgr.

	Volume de l'urine recueillie en cm ³	Concentrations en mgr. pour 100 cm ³			Quantités éliminées en mgr. pour 100 cm ³		
		libre	Sulfamide conjuguée	totale	libre	Sulfamide conjuguée	totale
Après 2 h. ...	36	60	40	100	21	15	36
Après 4 h. ...	15	350	350	700	52,5	52,5	105
Après 6 h. ...	16	240	360	600	38,5	57,5	96
Après 8 h. ...	24	120	380	500	29	91	120
De 8 à 24 h. ..	25	80	820	900	20	205	225
Après 24 h. ..	125	15	105	120	19	131	150
De 24 à 48 h. .	180	2,5	37,5	40	4,5	67,5	72
Après 48 h. ...	50	1	29	30	0,5	14,5	15

Remarque : l'urine recueillie après 4 heures présentait un dépôt cristallin de sulfamide.

Taux d'élimination :

En 8 h. : 43 % de la sulfamide ingérée (16,7 % à l'état libre, 26,3 % à l'état conjugué).

En 24 h. : 88 % de la sulfamide ingérée (21,8 % à l'état libre, 66,2 % à l'état conjugué).

En 48 h. : 99 % de la sulfamide ingérée (25 % à l'état libre, 74 % à l'état conjugué).

L'action bactéricide a été observée après 4 heures.

6^e essai : 1 gr. par kilogramme (0gr. 50 de sulfanilamide).

Lapin B. Poids : 2 kgr. 270.

Sulfanilamide ingérée : 1.135 mgr.

	Volume de l'urine recueillie en cm ³	Concentrations en mgr. pour 100 cm ³			Quantités éliminées en mgr. pour 100 cm ³		
		libre	Sulfamide conjuguée	totale	libre	Sulfamide conjuguée	totale
Après 2 h. ...	40	40	60	100	16	24	40
Après 4 h. ...	25	120	180	300	30	45	75
Après 6 h. ...	12	250	550	800	30	66	96
Après 8 h. ...	28	120	280	400	34	78	112
De 8 à 24 h. ..	205	50	150	200	102,5	307,5	410
Après 24 h. ..	17	5	315	320	< 1	54,5	55
De 24 à 48 h. .	280	8	9,5	17,5	22,4	24,6	47
Après 48 h. ..	95	0,5	12	12,5		12	12

Remarque : les urines recueillies après 6 heures et 8 heures présentaient un dépôt cristallin de sulfamide.

Taux d'élimination :

En 8 h. : 28,4 % de la sulfamide ingérée (9,7 % à l'état libre, 18,7 % à l'état conjugué).

En 24 h. : 69,4 % de la sulfamide ingérée (18,8 % à l'état libre, 50,6 % à l'état conjugué).

En 48 h. : 74,6 % de la sulfamide ingérée (20,7 % à l'état libre, 53,9 % à l'état conjugué).

L'action bactéricide n'a été constatée à aucun moment.

7^e essai : 1 gr. par kilogramme (0 gr. 50 de sulfanilamide).

Lapin F. Poids : 2 kgr. 600.

Sulfanilamide ingérée : 1.300 mgr.

	Volume de l'urine recueillie en cm ³	Concentrations en mgr. pour 100 cm ³			Quantités éliminées en mgr. pour 100 cm ³		
		libre	Sulfamide conjuguée	totale	libre	Sulfamide conjuguée	totale
Après 2 h. ...	38	80	120	200	30,5	45,5	76
Après 4 h. ...	17	250	550	800	42,5	93,5	136
Après 6 h. ...	15	200	800	1000	30	120	150
Après 8 h. ...	6	40	360	400	2,5	21,5	24
De 8 à 24 h. ...	160	30	120	150	48	192	240
Après 24 h. ...	60	10	230	240	6	138	144
De 24 à 48 h. ...	625	2	13	15	12,5	81,5	94
Après 48 h. ...	40	0	4	4		1,5	1,5

Remarque : les urines recueillies après 6 heures et 8 heures présentaient un dépôt cristallin de sulfamide.

Taux d'élimination :

En 8 h. : 29,7 % de la sulfamide ingérée (8,1 % à l'état libre, 21,6 % à l'état conjugué).

En 24 h. : 59 % de la sulfamide ingérée (12,3 % à l'état libre, 46,7 % à l'état conjugué).

En 48 h. : 66,5 % de la sulfamide ingérée (13,2 % à l'état libre, 53,3 % à l'état conjugué).

L'action bactéricide n'a été constatée à aucun moment.

8^e essai : 1 gr. 50 par kilogramme (0 gr. 75 de sulfanilamide).

Lapin B. Poids : 2 kgr. 260.

Sulfanilamide ingérée : 1.700 mgr.

	Volume de l'urine recueillie en cm ³	Concentrations en mgr. pour 100 cm ³			Quantités éliminées en mgr. pour 100 cm ³		
		libre	Sulfamide conjuguée	totale	libre	Sulfamide conjuguée	totale
Après 2 h. . .	30	100	150	250	30	45	75
Après 4 h. . .	20	350	650	1000	70	130	200
Après 6 et 8 h.	15	500	900	1400	75	135	210
De 8 à 24 h. .	240	100	150	250	240	360	600
Après 24 h. .	50	3	277	280	1,5	138,5	140
De 24 à 48 h. .	600	2	13	15	12	78	90
Après 48 h. .	80	1	9	10	0,8	7,2	8

Remarque : les urines recueillies après 4 heures, 6 heures et 8 heures présentaient un dépôt cristallin de sulfamide.

Taux d'élimination :

En 8 h. : 28,5 % de la sulfamide ingérée (10 % à l'état libre, 18,5 % à l'état conjugué).

En 24 h. : 72 % de la sulfamide ingérée (24,5 % à l'état libre, 47,5 % à l'état conjugué).

En 48 h. : 77,8 % de la sulfamide ingérée (25,2 % à l'état libre, 52,6 % à l'état conjugué).

L'action bactéricide a été constatée aux heures 4, 6 et 8.

C. — Interprétation des résultats.

1^o ELIMINATION PROPREMENT DITE.

Nous avons vérifié d'abord, sur le lapin, deux notions classiques : le passage rapide des sulfamides dans l'organisme et leur élimination pour une grande partie à l'état de dérivé conjugué.

En effet, la para-aminobenzène-sulfonamide et son dérivé glucosé, introduits dans les voies digestives, passent dans l'urine dès les premières heures suivant l'ingestion et peuvent y être éliminés en presque totalité. D'autre part, les dosages effectués directement et après hydrolyse révèlent qu'une petite partie seulement de la sulfamide excrétée se trouve à l'état libre, la plus grande partie se conjuguant rapidement dans l'organisme et s'éliminant sous cette forme inactive.

Nous avons constaté, à ce propos, qu'après l'ingestion de glucose sulfanilamide, l'urine renfermait une quantité de sulfanilamide directement dosable (donc libre) en même proportion

qu'après l'ingestion d'une dose de sulfanilamide ordinaire correspondante ; par la suite, cette sulfanilamide libérée dans l'organisme se conjugue et les formes d'élimination des 2 composés sont donc semblables.

Nous examinerons d'abord le *taux de l'élimination*, puis la *marche de l'élimination* des formes libre et conjuguée, pour la sulfanilamide et pour la glucose sulfanilamide, enfin, les *concentrations maxima* observées dans l'urine après ingestion de diverses doses.

a) *Taux de l'élimination.*

α) *Élimination de la sulfamide totale.* — Pour les deux composés, le taux d'élimination de la sulfamide totale, calculé 8 heures, 24 heures et 48 heures après l'ingestion d'une dose unique, nous est apparu très variable selon les doses et selon les animaux.

Dans le cas de la *para-aminobenzène-sulfonamide*, les essais ne nous ont pas montré de relation nette entre le pourcentage de la sulfamide éliminée et les différentes doses ingérées.

Si nous considérons l'ensemble des essais, nous constatons qu'après 8 heures, la quantité de sulfamide totale éliminée représentait de 17 à 55 % de la quantité de sulfamide ingérée, après 24 heures de 38 à 90 %, et après 48 heures, de 50 à 93 %.

Dans un seul essai sur 7, l'élimination de la sulfamide a été presque complète en 48 heures (93 %) ; dans la moyenne, elle a été, en 48 heures, voisine de 60 %.

Pour une même dose, nous avons observé de grandes variations selon les animaux. Pour un même animal, nous n'avons pas pu noter de relation entre le taux de l'élimination et la dose administrée.

Dans le cas de la *glucose sulfanilamide* au contraire, les essais ont mis en évidence quelques points intéressants.

L'examen de l'ensemble des essais montre qu'après 8 heures, la quantité de sulfamide éliminée représentait de 28 à 62 % de la quantité de sulfamide ingérée, après 24 heures, de 59 à 88 %, et après 48 heures de 66 à 99 %. Ces chiffres sont peu différents en somme de ceux obtenus avec la sulfanilamide ordinaire. Mais, dans la moitié des essais (4 sur 8), l'élimination a dépassé 80 % en 24 heures et 90 % en 48 heures.

Il semble donc déjà que la glucose sulfanilamide soit éliminée plus facilement que la sulfanilamide ordinaire.

D'autre part, il apparaît nettement avec le dérivé glucosé, ce qui n'était pas sensible avec la para-aminobenzène-sulfamide, que les faibles doses sont éliminées plus rapidement et plus complètement que les doses fortes.

Cette constatation ressort d'une vue d'ensemble des essais, mais encore plus précisément de l'examen des différents essais effectués sur un même animal.

Ainsi, le lapin C, après ingestion d'une dose de 0 gr. 25 par kilogramme de sulfanilamide (dérivé glucosé) a éliminé 90 % en 24 heures, et, après ingestion d'une dose de 0 gr. 50 par kilogramme, a éliminé seulement 60 %.

De même, le lapin B a éliminé 98 et 99 % de la sulfamide après ingestion des doses de 0 gr. 25 et 0 gr. 35 par kilogramme, et seulement 74 et 77 % après ingestion des doses de 0 gr. 50 et 0 gr. 75.

β) *Elimination de la sulfamide libre.* — Le pourcentage de sulfamide excrétée à l'état libre est aussi tout à fait variable selon les essais et sans rapport apparent avec les doses administrées et les animaux utilisés.

Dans le cas de la *para-aminobenzène-sulfonamide* ou sulfanilamide ordinaire, nous trouvons ainsi, après 8 heures, une élimination de sulfamide libre représentant de 5,3 à 17 % de la quantité de sulfamide ingérée, après 24 heures, de 6,5 à 22 %, et après 48 heures, de 6,6 à 22,3 %.

Dans le cas de la *glucose sulfanilamide*, nous trouvons, après 8 heures, une élimination de sulfamide libre représentant de 6,2 à 16,7 % de la quantité ingérée, après 24 heures, de 7 à 24,5 % et après 48 heures, de 7,2 à 25,2 %.

Il est évident d'abord que l'élimination de ces deux composés se produit de la même façon, puisque nous retrouvons, dans les deux cas, des chiffres extrêmes à peu près semblables. Qu'il s'agisse de l'ensemble des essais ou des différents essais effectués sur un même animal, nous n'avons pu établir de relation entre le taux final de l'élimination de la sulfamide libre et la dose administrée.

Les grands écarts font qu'il est assez difficile de fixer la valeur d'un rapport $\frac{\text{sulfamide libre excrétée}}{\text{sulfamide totale excrétée}}$. Il varie ici de 1/10 à 1/3, mais il est plus fréquemment voisin de 1/3.

Nous pouvons admettre, en gros, que le $\frac{1}{3}$ de la sulfanilamide ou de la glucose sulfanilamide ingérée s'élimine à l'état libre et dans les premières heures de l'élimination, et les $\frac{2}{3}$ restants, à l'état conjugué.

b) *Marche de l'élimination.*

Il est intéressant de comparer l'état de la sulfamide ingérée à des temps divers après l'ingestion et pour différentes doses, et de rechercher le moment de l'élimination maxima de la sulfamide sous les deux formes libre et conjuguée.

Dans le cas de la *para-aminobenzène-sulfonamide* ou sulfanilamide ordinaire, le maximum d'élimination de la *sulfamide totale* se place après 4 heures et 6 heures pour les doses faibles et moyennes (0 gr. 25 et 0 gr. 35 par kgr.), et plutôt après 6 heures et 8 heures pour les doses fortes (0 gr. 50 et 0 gr. 75 par kgr.).

Le maximum d'élimination de la *sulfamide libre* se place presque constamment 4 heures après l'ingestion, tandis que celui de la *sulfamide conjuguée* se place après 6 heures et 8 heures (en correspondance avec le maximum d'élimination de la sulfamide totale).

Dans le cas de la *glucose sulfanilamide*, le maximum d'élimination de la *sulfamide totale* se place après 4 heures, 6 heures ou 8 heures pour les doses petites et moyennes (0 gr. 25 et 0 gr. 35 de sulfanilamide par kgr.) et plutôt après 8 heures pour les doses fortes (0 gr. 50 et 0 gr. 75 de sulfanilamide par kgr.).

Le maximum d'élimination de la *sulfamide libre* se place après 2 heures pour les petites doses, après 4 heures, plus rarement 6 heures, pour les fortes doses, tandis que celui de la sulfamide conjuguée se place le plus souvent après 6 heures et 8 heures (comme le maximum d'élimination de la sulfamide totale).

Nous constatons donc ici, comme déjà plus haut, que l'élimination de la glucose sulfanilamide semble se faire plus rapidement que celle de la sulfanilamide ordinaire, et que les petites doses sont mieux éliminées que les grandes.

c) *Concentrations maxima observées dans l'urine.*

Les plus fortes concentrations de sulfamide obtenues dans l'urine ont été consécutives évidemment à l'ingestion des plus fortes doses, mais les concentrations étant aussi fonction de la

diurèse, des concentrations assez élevées ont pu être observées après des doses moyennes.

Suivant les doses et suivant la diurèse, les concentrations maxima, après administration *per os* de *para-aminobenzène-sulfonamide* ou sulfamide ordinaire, ont été, pour 100 cm³ d'urine, de 250 à 1.200 milligrammes de sulfanilamide libre ; après administration *per os* de *glucose sulfanilamide*, elles ont été de 500 à 1.400 milligrammes de sulfanilamide totale, et de 100 à 500 milligrammes de sulfanilamide libre.

Ces chiffres sont tout à fait comparables à ceux rapportés en particulier par MARSHALL (267) qui avait obtenu, chez le chien, des concentrations de 269 à 910 milligrammes pour 100 cm³, après administration d'une dose de 0 gr. 20 par kilogramme.

Ainsi que nous l'avons signalé plus haut dans le détail des essais, il est arrivé fréquemment (en général pour des concentrations supérieures à 200 milligrammes) que la sulfamide précipite dans l'urine en fins cristaux.

2^e ELIMINATION DES DEUX SULFAMIDES ET ACTION BACTÉRICIDE DANS L'URINE.

Nous avons naturellement rapproché, puisqu'ils étaient recherchés simultanément, les résultats de l'étude de l'élimination des deux sulfamides considérées de ceux de l'étude du pouvoir bactéricide de l'urine à l'égard du colibacille.

Ce rapprochement pouvait nous donner 2 notions importantes :

a) Le rapport entre la marche de l'élimination et la manifestation du pouvoir bactéricide.

b) La détermination possible des concentrations bactéricides.

a) *Rapport entre la marche de l'élimination et la manifestation du pouvoir bactéricide.*

Dans le cas de la *para-aminobenzène-sulfonamide* ou sulfanilamide ordinaire, comme dans le cas de la *glucose sulfanilamide*, nous avons toujours constaté une coïncidence entre l'élimination maxima de la sulfamide libre et l'action bactéricide, c'est-à-dire que les échantillons d'urine présentant un pouvoir bactéricide étaient précisément ceux correspondant à l'heure de l'élimination maxima de la sulfamide libre et aux heures voisines : soit

4 heures, 6 heures et 8 heures pour la sulfanilamide et 2 heures, 4 heures et 6 heures pour la glucose sulfanilamide.

Ainsi, il existe bien une relation entre la présence de la sulfamide dans les urines et le pouvoir bactéricide de celles-ci.

D'autre part, il semble confirmé que c'est la forme libre qui est seule active, la forme conjuguée apparaissant en grande quantité dans les urines, toujours plus tardivement que la propriété bactéricide.

b) Détermination possible des concentrations bactéricides.

Les concentrations de sulfanilamide libre que nous avons notées dans les urines présentant un pouvoir bactéricide sont tout à fait variables.

Qu'il s'agisse de la para-aminobenzène-sulfonamide ou de son dérivé glucosé, nous avons pu observer, dans quelques cas, une action bactéricide pour des concentrations inférieures à 100 milligrammes de sulfamide libre pour 100 cm³ d'urine : 80, 60 et même 40 milligrammes de sulfamide libre.

Nous avons vu plus haut que les plus fortes concentrations de sulfamide libre que nous ayons pu obtenir dans l'urine, par exemple après l'ingestion de doses de 0 gr. 50 et 0 gr. 75 par kilogramme, ont été de l'ordre de 350 et 400 milligrammes de sulfamide libre, concentrations telles que la sulfamide formait un dépôt cristallin. Or, des concentrations aussi élevées n'ont pas toujours coïncidé avec une action bactéricide.

On peut difficilement invoquer dans ces cas des différences individuelles chez les animaux ou des différences de réaction de l'urine.

En effet, ces oppositions ont été constatées au cours de différents essais effectués chez un même lapin, et dans des urines à pH sensiblement identiques et compris entre 7,3 et 7,8.

Il nous est donc impossible de fixer une concentration de sulfanilamide qui soit constamment bactéricide pour le colibacille dans l'urine du lapin, puisque l'action antiseptique peut être obtenue pour une concentration de 40 milligrammes pour 100 cm³, et peut faire défaut pour une concentration 6 ou 8 fois supérieure.

Des incohérences analogues ont été rapportées déjà dans la littérature des sulfamides et sont liées certainement au mécanisme, encore obscur, de l'action de ces composés.

CONCLUSIONS DE L'ÉTUDE DE L'ÉLIMINATION

Nous pouvons tirer de cette étude de l'élimination de la para-aminobenzène-sulfonamide ou sulfanilamide ordinaire et de son dérivé glucosé, chez le lapin, et après ingestion de doses uniques, les conclusions suivantes :

1^o En ce qui concerne *l'élimination des deux sulfamides* :

a) En accord avec ce qui a été signalé par les auteurs, l'excrétion des sulfamides débute dans les premières heures suivant l'introduction dans les voies digestives et elle est surtout importante dans les premières 24 heures.

b) Les doses faibles et moyennes (0 gr. 25 et 0 gr. 50 de sulfanilamide par kgr.) peuvent être éliminées pour les 1/5 environ en 24 heures et presque totalement en 48 heures.

c) Une petite partie seulement (1/3 environ) de la sulfamide excrétée se trouve à l'état libre, en particulier dans les premières heures de l'élimination. La quantité de sulfamide conjuguée augmente rapidement avec le temps et représente finalement les 2/3 de la sulfamide totale excrétée.

2^o En ce qui concerne *l'élimination de la glucose sulfanilamide* :

a) La combinaison glucose-sulfanilamide s'est montrée facilement dissociée dans l'organisme et capable de libérer de la sulfanilamide libre, directement dosable dans les urines comme après l'ingestion de la sulfanilamide ordinaire.

b) La glucose sulfanilamide semble éliminée plus rapidement que la sulfanilamide ordinaire : le maximum d'élimination de la sulfanilamide libre s'est situé le plus fréquemment pour le premier composé, 2 heures et 4 heures après l'ingestion, et pour le deuxième composé, 4 heures et 6 heures après l'ingestion.

3^o En ce qui concerne *l'élimination en liaison avec l'action bactéricide* :

a) le pouvoir bactéricide de l'urine, au cours des heures suivant l'ingestion, est apparu aux heures correspondant à la plus forte élimination des sulfamides. Il nous a semblé que la sulfamide libre représentait bien la forme active.

b) Le pouvoir bactéricide ne s'est pas révélé en liaison directe

avec les quantités de sulfamide présentes dans l'urine, c'est-à-dire qu'il ne nous a pas été possible de fixer les concentrations de sulfamide qui peuvent être bactéricides dans l'urine.

Ces dernières constatations ont été faites pour la glucose sulfanilamide aussi bien que pour la sulfanilamide ordinaire.

CHAPITRE III

Toxicité générale et action irritante de la sulfanilamide et de la glucose-sulfanilamide.

Données bibliographiques sur la toxicité de la para-aminobenzène-sulfonamide ou sulfanilamide.

Nous n'envisagerons ici que la toxicité expérimentale de la para-aminobenzène-sulfonamide, l'action toxique chez l'homme représentant à elle seule un sujet trop vaste pour cette étude.

D'ailleurs, les nombreux accidents observés au cours de la sulfamidothérapie sont fort différents des symptômes produits sur les animaux de laboratoire par une intoxication aiguë. Pour les premiers, il y a lieu de distinguer entre ceux relevant de l'action toxique propre de la sulfamide et ceux relevant plutôt d'une idiosyncrasie. On a constaté des incidents immédiats ou précoces, très divers dans leurs manifestations et de gravité variable, et des accidents tardifs, beaucoup plus graves, d'origine certainement toxique.

Les uns et les autres constituent la matière d'une abondante littérature recueillie principalement dans les articles de MARTIN et DELAUNAY (273), GARROD (217), GARVIN (218), RAVINA (291) et dans les documentations de DUREL (207), FINDLAY (212), LONG et BLISS (254), HARVIER et PERRAULT (229). Enfin, une mise au point très claire et assez récente de cette question, accompagnée de nombreuses références, a été faite dans la thèse de Médecine de DUCHATEL (206) et dans une série d'articles de WORMS (327).

TOXICITÉ EXPÉRIMENTALE

Nous examinerons successivement, dans les nombreux travaux effectués à ce sujet, les doses toxiques de sulfanilamide pour les animaux de laboratoire, les symptômes observés au cours de l'intoxication aiguë et chronique, puis les diverses actions pharmacologiques constatées expérimentalement.

1. Toxicité aiguë.

Chez la *souris*, les premiers chiffres sur la toxicité de la sulfanilamide, par voie buccale, sont donnés par BUTTLE, GRAY et STEPHENSON (191) : ils observèrent une tolérance parfaite pour une dose de 2 gr. 50 par kilogramme, une mortalité de 33 % des animaux avec 5 gr. par kilogramme et une mortalité de 100 % avec 10 gr. par kilogramme. A leur suite, HAGEMAN (225) confirme une dose tolérée de 2 gr. 50 et une dose mortelle de 5 gr. par kilogramme ; BARLOW (186) fixe la dose léthale moyenne à 6 gr. 25 par kilogramme, HALPERN et MAYER (226) à 6 gr., et MOLITOR et ROBINSON (278) à 4 gr. 80. MARSHALL, CUTTING et EMERSON (270), tout en accordant à la sulfanilamide une toxicité assez faible (la dose 100 % mortelle serait supérieure à 10 gr. par kgr.), trouvent cependant une dose léthale moyenne de 3 gr. 80 ; pour DYKE (208), elle serait, de même, voisine de 4 gr. et cet auteur signale que la toxicité des échantillons industriels de sulfanilamide n'est pas modifiée par la présence de traces d'isomères ortho et méta. FEINSTONE, BLISS, OTT et LONG (210) se déclarent d'accord avec DYKE et MARSHALL : ils n'observent aucune mortalité jusqu'à 3 gr. par kilogramme, mais une mortalité de 80 % à 3 gr. 50 et de 92 % à 4 gr.

En somme, les résultats présentent des variations considérables, la dose léthale moyenne, *per os*, pour la souris, variant de 3 gr. 80 à 6 gr. par kilogramme selon les auteurs.

Des divergences se trouvent, de même, dans les essais par voie sous-cutanée. FISCHER (213), étudiant sur la souris des dérivés sulfamidés solubles, constate, avec une solution à 1 % de paraaminobenzène-sulfonamide, qu'une dose de 100 milligrammes pour une souris de 20 gr. (5 gr. par kgr.) produit une mortalité de 50 %. Pour RAIZISS, SÉVERAC et MOETSCH (290), la dose de 2 gr.

est tolérée, les doses de 2 gr. et 3 gr. sont déjà mortelles. Une solution de chlorhydrate de sulfanilamide, utilisée par SUPNIEWSKI et HANO (311) tuait les souris à la dose de 2 gr. de sulfamide par kilogramme. Une toxicité encore plus élevée a été trouvée par LONG et BLISS (254) qui observèrent qu'une injection sous-cutanée de 9 milligrammes, pour une souris de 20 gr., répétée après un intervalle de 3 heures, produisait chez les animaux des symptômes nerveux disparaissant en 4 heures.

En réalité, pour la voie sous-cutanée, ces variations tiennent en partie à la préparation utilisée. BUTTLE et ses collaborateurs (191) signalent qu'une solution de chlorhydrate de sulfanilamide, très acide, produit une nécrose au lieu d'injection. Pour cette raison, BARLOW (186) se refuse à donner une réelle valeur aux données toxicologiques obtenues avec des sels solubles de sulfanilamide, trop irritants ; dans ses propres essais comparatifs, les doses moyennes toxiques de para-aminobenzène-sulfonamide, obtenues avec une solution aqueuse, une suspension aqueuse à 20 % en présence de gomme et une émulsion dans l'huile d'olive, sont respectivement de 2 gr. 75, 3 gr. 75 et 4 gr. par kilogramme. Pour une émulsion huileuse, ROSENTHAL (298) trouva une toxicité encore plus faible, la dose léthale moyenne étant voisine de 6 gr. par kilogramme, et les doses de 2 gr., 3 gr. et 4 gr. produisant seulement des troubles non mortels.

C'est dire que, si l'on met à part l'action irritante des préparations obtenues par solubilisation chimique de la sulfanilamide, la toxicité ne semblerait pas plus importante par voie sous-cutanée que par voie buccale, et la tolérance chez la souris est assez grande.

La sensibilité du *rat* à la sulfanilamide, administrée *per os*, a été différemment appréciée, les doses toxiques rapportées variant de 3 gr. 90 à 10 gr. par kilogramme (MARSHALL (270)). Tandis que pour HALPERN et MAYER (226), la toxicité semble deux fois plus forte pour le rat que pour la souris, la dose de 4 gr. par kilogramme produisant une mortalité de 90 %, MOLITOR et ROBINSON (278) voient, au contraire, une tolérance plus grande, la dose léthale moyenne, qui est de 4 gr. 80 chez la souris, étant seulement de 6 gr. 20 chez le rat.

Par voie intraveineuse (RAIZISS, SÉVERAC et MOETSCH (290)), les rats tolèrent 0 gr. 20 et 0 gr. 40 par kilogramme, et peut-être davantage, car la faible solubilité limite les essais.

Le *cobaye* serait plus sensible que les précédents à la sulfanilamide, la dose mortelle, *per os*, étant de 2 gr. par kilogramme (HALPERN et MAYER (226)).

Chez le *lapin*, J. et M^{me} J. TRÉFOUEL, NITTI et BOVET (314), renonçant à la voie endoveineuse pour des solutions trop acides, constatèrent, par la voie buccale, une tolérance de 5 gr. par kilogramme. Elle semble un peu exagérée par rapport aux chiffres donnés par d'autres auteurs : la dose mortelle serait, en effet, de 2 gr. pour HALPERN et MAYER (226), 2 gr. 50 pour RAIZISS, SÉVERAC et MOETSCH (290), et 3 gr. 50 pour MARSHALL, CUTTING et EMERSON (270).

Par voie intraveineuse, le lapin tolère certainement 0 gr. 10 et 0 gr. 20 par kilogramme (RAIZISS et ses collaborateurs (290)) ; des doses plus élevées n'ont pas pu être essayées.

Il est remarquable que l'injection intrapéritonéale, appliquée par HAWKING (281) à l'administration de très fortes doses chez le lapin et chez le cobaye, n'a aucun effet irritant.

Enfin, l'action toxique de la sulfanilamide chez le *chien* a été étudiée par quelques auteurs qui examinèrent surtout les divers troubles après administration buccale de doses variées, sans chercher à déterminer exactement la dose toxique. HALPERN et MAYER (226), comme MARSHALL et ses collaborateurs (270) ont signalé des troubles graves et même mortels avec 1 gr. par kilogramme.

Il est en somme tout à fait net que la toxicité de la sulfanilamide croît à mesure qu'on s'élève dans l'échelle animale, la souris supportant, relativement, des doses 4 fois plus fortes que le chien.

Aux Etats-Unis, à la suite de décès survenus après administration d'un élixir contenant de la sulfanilamide solubilisée par du diéthylène glycol, des essais effectués sur des souris, des rats, des lapins et des chiens (POE et WITT (289), GEILING, COWN et SCHOEFFEL (219)) ont montré que la toxicité de la préparation était imputable surtout au solvant.

En dehors de cette vaste expérimentation sur les mammifères, quelques travaux ont été effectués par des auteurs américains sur des vertébrés inférieurs. C'est ainsi que LITCHFIELD (252) a étudié l'action de la sulfanilamide sur un poisson (*Squalus Acanthias*), sur la grenouille (*Rana pipiens*) et sur le poulet (*Gallus domesticus*) ; il a constaté une sensibilité assez grande chez le poisson, assez faible chez la grenouille.

2. Toxicité chronique.

L'administration répétée de sulfanilamide modifie sensiblement les doses toxiques données ci-dessus.

Chez la *souris*, des doses pérorales, inoffensives lorsqu'elles sont administrées une seule fois (1 gr., 1 gr. 50 et 2 gr. par kilogramme), peuvent produire, par répétition quotidienne, des troubles importants et même la mort (ROSENTHAL (298)). MOLITOR et ROBINSON (278) ont aussi constaté qu'en répétant l'ingestion 10 jours de suite, la dose létale moyenne, pour les souris, passe de 4 gr. 80 à 3 gr. 50, et pour les rats, de 6 gr. 20 à 4 gr. 20 ; de même, chez le lapin et chez le chien, la toxicité de la sulfamide s'accroît par l'administration chronique. Enfin, des doses de 0 gr. 50 et 1 gr. par kilogramme, qui sont bien tolérées par le cobaye lors de la première ingestion, peuvent être mortelles si elles sont renouvelées 2 ou 3 fois (HALPERN et MAYER (226)).

Cependant, BARLOW (186) constata sur les *rats* que de petites doses buccales quotidiennes (0 gr. 25 par kgr.) sont sans influence sur la courbe de croissance normale des jeunes animaux. Par ailleurs, MARSHALL (270) et ses collaborateurs ont pu administrer à des *chiens* pendant plusieurs mois des doses quotidiennes de 0 gr. 20 par kilogramme sans observer aucune anomalie.

Chez le *poulet*, l'administration prolongée de sulfanilamide produirait de la cyanose (LITCHFIELD (252)) et de la névrite périphérique (ROSENTHAL (298)).

3. Symptômes toxiques observés.

Si nous venons de constater de grandes divergences dans les doses toxiques données par les différents chercheurs, il y a, par contre, un certain accord dans la description des symptômes qui apparaissent au cours de l'intoxication expérimentale légère ou grave par la sulfanilamide.

On peut dire, en effet, que, quelle que soit la voie d'introduction de la sulfamide et même, quel que soit l'animal, le tableau de l'intoxication aiguë est toujours le même. Il a été particulièrement bien étudié et décrit par MARSHALL, CUTTING et EMERSON (270) chez la souris, le chien et le lapin, par MOLITOR et ROBINSON (278) chez la souris, et par HALPERN et MAYER (226) qui

comparaient chez plusieurs animaux et surtout chez le chien, la toxicité par voie buccale du prontosil, de la sulfanilamide et de la benzylsulfanilamide.

La para-aminobenzène-sulfonamide semble agir essentiellement sur le système nerveux central, produisant, selon les doses administrées, de l'excitation, de l'incoordination motrice, de la paralysie des membres alternant avec des convulsions, et finalement la paralysie de la respiration.

Chez la *souris* comme chez le *cobaye*, HALPERN et MAYER ont noté qu'à des doses relativement éloignées de la dose léthale (2 gr. par kgr.), on observe déjà de l'ataxie, des mouvements athétosiques et de la raideur. Des doses subtoxiques produisent de l'excitabilité, de l'incoordination motrice et une paralysie temporaire des pattes, persistant de 4 à 12 heures (BUTTLE et ses collaborateurs (191), ROSENTHAL (298)). L'action des doses léthales a été nettement relevée par HALPERN et MAYER (226) que nous citons ici : « Le syndrome d'intoxication par le 1162 F est tout à fait caractéristique et identique chez tous les animaux entre 1/4 d'heure et 2 heures après l'ingestion. Les troubles nerveux débutent par une ataxie locomotrice, des mouvements athétosiques que suit un état de raideur ; l'animal est figé dans une position rappelant l'opisthotonos permanent, entrecoupé par des convulsions toni-cloniques. Puis, petit à petit, l'animal est plongé dans un état de torpeur aboutissant à un coma qui précède la mort. Chez la souris, ces accidents nerveux peuvent durer plusieurs jours, sans entraîner fatalement la mort. » Au contraire, BUTTLE, STEPHENSON, SMITH et FOSTER (193) observent en 6 heures seulement soit la mort, soit le rétablissement, car le toxique doit s'éliminer rapidement.

Chez le *lapin* (HAWKING (231)), de très fortes doses (1 gr. 50 et 2 gr. par kgr.) produisent, après 1/2 heure à 2 heures, des symptômes nerveux qui rappellent la rigidité décérébrée ; les premiers signes de rétablissement apparaissent après 10 heures et le retour à la normale s'effectue en 3 à 4 jours, sans que l'animal manifeste une baisse de poids.

Chez le *chat* (HAWKING (231)), le tableau est un peu différent : on observe une paralysie passagère d'origine corticale pendant quelques heures ; en cas d'intoxication fatale, la mort survient après trois jours par épuisement et infection pulmonaire.

Chez le *chien*, MARSHALL et ses collaborateurs (270) ont observé,

aux doses toxiques (1 gr. par kgr.), de la salivation, des vomissements, de la diarrhée, de l'hyperpnée, de l'excitation, de la faiblesse musculaire, de l'ataxie, des signes de stimulation et de dépression du système nerveux central amenant un état de rigidité des membres et de l'hyperesthésie, puis la mort dans le coma. Dans les cas non mortels, les symptômes disparaissent après 10 à 12 heures. Ces auteurs remarquent que les premiers stades ressemblent à ceux observés chez les chiens avec de fortes doses d'alcool éthylique ; les derniers stades ressemblent à ceux observés chez un chien décortiqué.

Chez les Vertébrés inférieurs, on observerait plutôt des symptômes musculaires (MARSHALL (264), ROSENTHAL (298), LICHTFIELD (252)).

Signes histologiques :

Sur les différents animaux expérimentés, l'autopsie, pratiquée après la mort par intoxication aiguë ou après sacrifice des animaux survivant à une administration simple ou prolongée, n'a montré, le plus souvent, aucun changement dans le foie, le rein, la rate, les poumons, les surrénales, le pancréas, la moëlle (HAGEMAN (225), HAWKING (231), MARSHALL et ses collaborateurs (270)). MOLITOR et ROBINSON (278) ont constaté quelquefois, après traitement par la sulfanilamide, une augmentation de volume de la rate et parfois des signes de dégénérescence dans le foie et dans le rein. L'examen du système nerveux de chats ayant succombé à des doses mortelles a révélé une chromatolyse dans les neurones des cornes antérieures de la moëlle et dans quelques cellules nerveuses de l'écorce et du cerveau moyen.

4. Actions pharmacologiques diverses.

On ne possède pas encore de données bien établies sur l'action pharmacologique générale de la para-aminobenzène-sulfonamide. DOMAGK (205) avait signalé l'extraordinaire indifférence du prontosil au point de vue pharmacologique. Ce domaine a été surtout exploré, pour la sulfanilamide, par SUPNIEWSKI et HANO (311) et par HAWKING (231).

HAWKING, avec une solution à 1 pour mille de sulfanilamide, ne constata aucune action sur l'intestin du lapin et du cobaye,

sur le cœur de la grenouille, et, après injection intraveineuse, sur la pression sanguine du chat.

Cependant, SUPNIEWSKI et HANO avaient précédemment observé, en opérant avec une solution de chlorhydrate de sulfanilamide, sur les cœurs isolés de grenouille et de lapin, une augmentation de la diastole aux dépens de la systole, puis l'arrêt en diastole ; sur le chat, après injection intraveineuse, une augmentation de volume du cœur et une diminution de la contraction cardiaque. Sur le système vasculaire, de fortes doses de sulfanilamide produisent de la vaso-constriction périphérique et une diminution de la pression sanguine. Le centre respiratoire est excité par des doses faibles, paralysé par des doses fortes (chez le lapin). La sulfanilamide, à doses élevées, produit encore une dépression des muscles lisses (intestin isolé de lapin, utérus isolé du rat), et supprime la contractilité du muscle de grenouille. Cette action toxique directe sur le muscle isolé et *in situ* a été retrouvée par LITCHFIELD (252). Ces différents auteurs notèrent aussi une augmentation de la diurèse chez le lapin, et une augmentation de la glycémie chez le cobaye. Par contre, après de fortes doses de sulfanilamide, un abaissement temporaire de la fonction rénale a été noté chez la souris par MOLITOR et ROBINSON (278) et chez le chien par MARSHALL (270), sans qu'il en résulte pour ce dernier animal de lésion permanente du rein.

L'acidose observée fréquemment par MARSHALL (270) après de fortes doses uniques, en coïncidence avec l'alcalinité de l'urine, serait due à une perte de bicarbonate et de bases, dont la résorption tubulaire est gênée par celle d'une grande quantité de sulfamide filtrée au niveau des glomérules ; le même fait a été constaté par STRAUSS et SOUTWORTH (310) sur des chiens.

A la suite d'une administration prolongée de sulfanilamide à des souris et à des rats, MARSHALL (272), HAGEMANN (225), RIMINGTON (295), MURAYAMA et LEAKE (280) ont pu constater un accroissement de l'élimination de la porphyrine dans l'urine et dans les fèces ; d'autre part, un accroissement du nombre des éosinophiles dans la moëlle des os, ainsi qu'un dépôt d'hemosidérine dans la rate.

La formule sanguine, au moins chez le chien et chez le lapin, ne subirait pas de modification, même après l'administration de fortes doses répétées (MARSHALL, CUTTING et EMERSON (265)). L'examen spectrophotométrique du sang, effectué par WEBB et

KNIAZUK (321) sur des animaux recevant de la sulfamide, leur a révélé, à côté de sangs normaux, des sangs contenant de la méthémoglobine ou de la sulflémoglobine ou un pigment étranger non identifié. Chez la souris, le poulet, le pigeon (RICHARDSON (293 et 294)) et chez le rat (MACHELLA et HIGGINS (260)), de l'anémie caractérisée par une réticulocytose a pu être observée après administration prolongée de sulfanilamide et dérivés sulfamidés.

Enfin, DAIÑOW et ZIMMET (201) ont remarqué que l'ingestion continue de la para-aminobenzène-sulfonamide (de même que celle d'autres composés sulfamidés), à doses thérapeutiques, entraînait, chez le cobaye, une baisse du taux de la vitamine C dans les testicules, le foie et le cerveau.

ESSAIS PERSONNELS

Nous avons considéré surtout la toxicité générale des deux sulfamides et accessoirement, l'action irritante possible sur le rein.

I. — TOXICITÉ GÉNÉRALE

Nous avons eu d'abord l'occasion, en étudiant un groupe de dérivés sulfamidés dont nous éprouvions l'action anti-infectieuse dans les septicémies expérimentales de la souris, d'évaluer, sur cet animal, la toxicité par voie buccale de la para-aminobenzène-sulfonamide ou sulfanilamide ordinaire, terme de comparaison normal des composés de ce groupe. Cette toxicité étant déjà bien établie par de nombreux auteurs sur différents animaux de laboratoire, nous nous étions bornée à faire l'essai de quelques doses destinées à nous servir de points de comparaison pour les dérivés nouveaux.

Dans le cas de la glucose sulfanilamide, étudiée plus récemment, en raison de la pénurie d'animaux, nous avons dû faire des essais restreints en opérant sur la souris blanche et par administration buccale, comparativement à la sulfanilamide ordinaire.

Après un bref rappel de la technique de ces opérations, nous rapporterons les résultats de ces deux groupes d'essais.

1. Technique d'essai de la toxicité.

C'est celle que nous avons décrite, dans la première partie, à propos de la détermination de la toxicité des dérivés résorciniques, sur la souris, par voie buccale (p. 80).

Ainsi, sans insister sur les détails et sur les diverses précautions qui ont été indiquées à cette occasion, nous rappellerons seulement l'essentiel de cette technique.

Des lots, aussi homogènes que possible, de souris adultes, mâles de préférence, et maintenues dans les mêmes conditions dans les jours précédant les essais, reçoivent, *per os*, au moyen d'une seringue munie d'une aiguille à bout arrondi, un volume convenable d'une préparation de la substance essayée. Ici, la préparation utilisée était une suspension aqueuse, à des titres variables (5, 10 et 20 %), en présence de poudre de gomme arabique. Pour l'administration des plus fortes doses, représentées par un volume important, afin de diminuer les risques d'étouffement, la quantité à faire ingérer était fractionnée en deux prises, espacées d'une demi-heure ou d'une heure. L'observation des animaux et l'autopsie des morts ayant succombé à une intoxication étaient effectuées comme il est habituel pour ces essais.

Nous avons précédemment défini « dose toxique » la quantité minimum de chaque substance qui, administrée par voie buccale, produisait la mort de l'animal d'expérience en 24 heures environ, cette quantité étant rapportée au kilogramme d'animal.

Dans le cas des deux sulfamides, il nous a été impossible d'atteindre cette « dose toxique », la faible capacité stomacale des souris limitant les quantités absorbables. Nous avons seulement considéré une dose létale moyenne approximative, ou même une dose tolérée. D'ailleurs, nous avons surtout pour but de comparer le dérivé glucosé de la sulfanilamide à la sulfanilamide elle-même.

2. Résultats des essais.

a) Toxicité de la *para*-aminobenzène-sulfonamide ou sulfanilamide ordinaire.

Nous avons utilisé pour l'essai de la *para*-aminobenzène-sulfonamide 50 souris. Les doses de 2 gr. 50, 3 gr. 75, 4 gr., 5 gr. et

6 gr. 25 par kilogramme, correspondant respectivement à 50 mgr., 75 mgr., 80 mgr., 100 mgr. et 125 mgr. pour une souris de 20 gr., ont été administrées à des groupes de 10 souris, selon la technique habituelle. Nous n'avons pas poursuivi l'essai de doses supérieures dont l'administration est pénible, et par suite, moins précise, chez ces petits animaux.

Les résultats sont résumés dans le tableau suivant, dans lequel nous indiquons, pour chaque dose, le rapport du nombre d'animaux morts au nombre d'animaux mis en expérience.

Dose en gr. par kgr. d'animal.....	2,50	3,75	4	5	6,25
Dose correspondante en mgr. pour une souris de 20 gr.	50	75	80	100	125
Rapport $\frac{\text{animaux morts}}{\text{animaux en expérience}} \dots$	0/10	1/10	1/10	2/10	6/10

Sans pouvoir fixer ainsi la dose toxique ou dose minima mortelle pour tous les animaux d'essai, nous pouvons cependant placer la *dose léthale moyenne* (c'est-à-dire celle qui tue 50 % des animaux en expérience) entre 5 gr. et 6 gr. par kilogramme d'animal, ce qui concorde avec les observations de nombreux auteurs.

Symptômes observés. — Pour des *doses faibles* de sulfanilamide (2 gr. 50 par kilogramme, correspondant à 50 mgr. pour une souris de 20 gr.), nous avons observé, 1 heure après l'ingestion, et chez la moitié seulement des animaux, une raideur des pattes postérieures, disparaissant dans les heures suivantes.

Pour des *doses moyennes* de sulfanilamide, la plus grande partie des animaux présente assez rapidement de l'incoordination motrice et une parésie très nette du train postérieur avec extension des pattes, puis un état général de prostration interrompue de temps en temps par des mouvements saccadés. Après 4 à 5 heures, une partie des souris atteintes se rétablit. Après 24 heures, la raideur et l'extension des pattes peut encore persister et disparaître seulement au cours de la deuxième journée. Nous avons constaté, à ces doses (3 gr. 75 et 4 gr.), et après 24 heures, une seule mort sur 10 animaux en expérience.

Pour des *doses plus fortes* (5 gr. et 6 gr. par kgr., correspondant respectivement à 100 et 120 mgr. pour une souris de 20 gr.), la parésie des pattes apparaît chez tous les animaux, 1/2 heure après l'ingestion. Après 1 heure et 2 heures, les souris sont inertes, mais de temps en temps, soit spontanément, soit sous l'influence

d'une excitation, il se déclenche des secousses convulsives de tout le corps avec étirement brusque des pattes, et quelquefois des sauts. A cette phase, nous avons observé une mort 3 heures après l'ingestion. Dans les heures suivantes, il se produit soit une légère amélioration, soit une aggravation, l'inertie augmentant et les réactions convulsives devenant plus rares et plus faibles. Le plus souvent, nous avons observé des morts après 20 à 24 heures seulement ; à ce moment, les troubles nerveux peuvent encore persister chez une partie des souris, la majorité conservant seulement un tiraillement des pattes postérieures qui donne à la marche une sorte de balancement. Après 48 heures les animaux ont recouvré l'état normal. L'autopsie de quelques animaux morts ne nous a pas permis de constater de lésions apparentes des viscères.

b) *Toxicité de la glucose sulfanilamide comparativement à la sulfanilamide ordinaire.*

En raison des difficultés auxquelles nous avons fait allusion au début de ce chapitre, l'essai de la toxicité de la glucose sulfanilamide a été réduit à l'essai comparatif, sur la souris, par voie buccale, des deux doses de 2 gr. 50 et 5 gr. par kilogramme, administrées à des groupes de 5 ou de 10 souris. Ces doses sont exprimées en sulfanilamide, c'est-à-dire que la glucose sulfanilamide renfermant 50 % de son poids de sulfanilamide, elles représentent respectivement 5 gr. et 10 gr. du composé glucosé.

La dose de 5 gr. par kilogramme de sulfanilamide (c'est-à-dire 10 gr. de glucose sulfanilamide) n'a pu être dépassée dans les essais, parce qu'il était presque impossible de faire ingérer à une souris une quantité de substance supérieure à 200 mgr., même en fractionnant en deux prises.

A la dose de 2 gr. 50 de sulfanilamide par kilogramme (correspondant à 5 gr. de glucose sulfanilamide), tandis que la sulfanilamide ordinaire produit, chez la souris, non constamment d'ailleurs, une raideur des pattes postérieures, la glucose sulfanilamide ne produit pas de troubles apparents, en dehors de la gêne résultant de l'introduction dans l'estomac d'un volume déjà important.

A la dose de 5 gr. de sulfanilamide par kilogramme (correspondant à 10 gr. de glucose sulfanilamide), la sulfanilamide et le

gluco-dérivé produisent, chez la souris, les mêmes accidents, signalés plus haut, consistant en une paralysie plus ou moins complète du train postérieur, suivie d'une prostration plus ou moins prolongée, interrompue quelquefois par des réactions convulsives. Le retour à la normale s'effectuait progressivement après 24 heures ou 48 heures. Nous n'avons pas observé de morts tandis que, dans les premiers essais de la sulfanilamide, nous avons noté deux morts sur 10 souris, pour cette même dose. Cette différence peut s'expliquer par des variations saisonnières dans la résistance des animaux ; c'est d'ailleurs pour cette raison que nous avons fait un essai comparatif des deux sulfamides.

Les symptômes toxiques nous ont paru moins accentués avec la glucose sulfanilamide qu'avec la sulfanilamide ordinaire. Ainsi 24 heures après l'ingestion, les animaux ayant reçu le glucodérivé semblaient mieux rétablis que ceux ayant reçu la sulfanilamide type.

Conclusion.

1° La première mesure de la toxicité de la *para-aminobenzène-sulfonamide* ou *sulfanilamide ordinaire*, par voie buccale, sur la souris, nous a permis de situer la dose léthale moyenne, entre 5 grammes et 6 grammes par kilogramme de poids d'animal, bien que nous n'ayions pu atteindre la dose minima mortelle pour tous les animaux d'expérience. Ces chiffres se trouvent en accord avec ceux de nombreux auteurs.

2° La *glucose sulfanilamide* semble présenter, en tenant compte de sa correspondance en sulfanilamide ordinaire, une toxicité légèrement inférieure à celle de ce composé. En effet, elle est tolérée, pour la souris, presque sans troubles, à la dose de 5 gr. par kilogramme, correspondant à 2 gr. 50 de sulfanilamide ordinaire.

II. — ACTION IRRITANTE SUR LE REIN.

Comme pour les autres antiseptiques urinaires étudiés, nous avons examiné l'action irritante possible des deux sulfamides sur le rein.

Dans ce but, au cours de tous les essais du pouvoir bactéricide, dans l'urine du lapin, nous avons recherché la présence de l'al-

bumine vraie et de la pseudo-albumine chaque fois que les sondages nous fournissaient des quantités d'urine suffisantes.

Avec la *para-aminobenzène-sulfonamide*, des doses moyennes de 0 gr. 25 et 0 gr. 35 par kilogramme et des doses plus fortes, de 0 gr. 50 et 0 gr. 75 par kilogramme, n'ont pas provoqué l'apparition d'albumine urinaire vraie, ni de pseudo-albumine, chez de nombreux lapins essayés.

Un seul lapin, qui ne semblait pas, d'ailleurs, parfaitement vigoureux, présenta des traces d'albumine vraie dans les heures suivant l'ingestion de 0 gr. 35 par kilogramme de sulfanilamide, en même temps que nous notions une élimination assez faible de la sulfamide totale et surtout de la sulfamide libre ; ce même animal, après un repos d'un mois, présenta, au cours d'un nouvel essai, des urines rares et troubles, bien que non albumineuses et, dans les semaines suivantes, un amaigrissement progressif qui aboutit à la mort. Nous ne pouvons retenir ce cas comme bien valable.

Avec la *glucose sulfanilamide*, les doses de 0 gr. 50, 0 gr. 70, 1 gr. et 1 gr. 50 par kilogramme de glucose sulfanilamide (correspondant respectivement à 0 gr. 25, 0 gr. 35, 0 gr. 50 et 0 gr. 75 de sulfanilamide) ont été éliminées par tous les lapins, sauf un, sans qu'apparaisse de l'albumine vraie, ou même de la pseudo-albumine, dans les urines.

Chez un seul lapin, au cours des essais de 3 doses différentes (0 gr. 50, 1 gr. et 1 gr. 50 de glucose sulfanilamide), nous avons constaté la présence de traces d'albumine non seulement au cours de l'essai, mais antérieurement à l'absorption du médicament, ce qui rend très improbable, évidemment, la possibilité d'une action irritante propre de la sulfamide. Il est à noter que dans ce cas particulier le taux d'élimination de la sulfamide correspondait tout à fait à la moyenne.

En résumé, si nous exceptons les deux cas rapportés qui semblent être ceux de deux lapins non normaux, la *para-aminobenzène-sulfanilamide* ainsi que son dérivé glucosé n'exercent pas d'action irritante sur le rein, puisque des doses de 0 gr. 50 et 0 gr. 75 de sulfanilamide par kilogramme n'ont pas donné lieu à l'apparition d'albumine dans les urines.

Cette absence d'action irritante au cours de l'élimination est particulièrement frappante si nous rapprochons les sulfamides

des dérivés résorciniques, par exemple, dont l'innocuité pour le rein reste malgré tout douteuse.

Symptômes observés au cours des essais.

Pour compléter cette étude de la toxicité des deux sulfamides, nous rapportons quelques incidents survenus au cours des essais du pouvoir bactéricide *in vivo* chez le lapin.

Pour la glucose sulfanilamide comme pour la sulfanilamide ordinaire, aux doses essayées (jusqu'à 0 gr. 75 par kgr.), nous n'avons pas observé de troubles attribuables obligatoirement à l'action toxique propre des sulfamides.

Nous avons vu précédemment les résultats des recherches d'albumine effectuées pour tous les essais.

Nous avons noté dans un seul essai, au cours de deux prélèvements successifs (4 heures et 8 heures après l'ingestion d'une dose de 0 gr. 75 par kilogramme de sulfanilamide) des traces de sang dans l'urine, chargée, de plus, de cristaux de sulfamide précipitée : ce fait et celui que l'urine apparut limpide au cours du prélèvement suivant, nous font estimer qu'il s'agissait d'un léger traumatisme.

Par ailleurs, pendant toute la période des essais, nous avons enregistré la mort, précédée de diarrhées et d'amaigrissement, de deux lapins : l'un, 7 jours après un essai qui s'était passé normalement, en particulier, sans que nous ayons observé un trouble quelconque dans le fonctionnement rénal (absence d'albumine dans les urines et élimination normale d'une dose de 0 gr. 25 par kgr. de sulfanilamide), l'autre, 13 jours après un essai au cours duquel nous avons observé un mauvais fonctionnement rénal, les urines étant très rares et troubles, sans albumine cependant ; ce dernier animal était cependant suspect parce qu'il avait présenté, dans un essai antérieur, des traces d'albumine et une élimination particulièrement faible de la sulfamide totale et surtout libre.

Ainsi que nous l'annoncions au début de ce paragraphe, il ne semble donc pas que la para-aminobenzène-sulfonamide et son dérivé glucosé exercent chez le lapin d'action toxique générale ou même d'action irritante sur le rein à des doses, *per os*, allant jusqu'à 0 gr. 75 de sulfanilamide par kilogramme.

CONCLUSIONS DE L'ÉTUDE DE DEUX SULFAMIDES

L'étude de l'action antiseptique *in vivo*, de l'élimination, de la toxicité générale et de l'action irritante, effectuée pour la para-aminobenzène-sulfonamide ou sulfanilamide ordinaire et pour la glucose sulfanilamide nous permet d'énoncer les conclusions suivantes :

1° En ce qui concerne l'ACTION BACTÉRICIDE *IN VIVO*, déterminée par passage dans l'urine du lapin, la sulfanilamide et la glucose-sulfanilamide se sont montrées actives dans certaines conditions.

Ces deux sulfamides nous ont paru d'égale valeur, la glucose sulfanilamide étant même, dans quelques essais, légèrement supérieure à la sulfanilamide ordinaire.

Des doses de l'un ou l'autre composé, allant de 0 gr. 25 à 0 gr. 75 par kilogramme, exprimées en sulfanilamide, administrées *per os* au lapin, se sont montrées capables de rendre l'urine de cet animal bactéricide pour le *colibacille*. Dans une urine alcaline, la dose moyenne active semble voisine de 0 gr. 35 de sulfanilamide par kilogramme ; dans une urine acide, l'activité a paru nettement diminuée. Dans tous les cas, les susceptibilités individuelles des animaux ont amené de grandes variations dans les résultats.

Vis-à-vis du *staphylocoque doré*, les doses essayées (de 0 gr. 25 à 0 gr. 75 de sulfanilamide par kgr.) ne nous ont pas permis d'observer une action bactéricide dans les conditions des essais.

2° En ce qui concerne l'ÉLIMINATION, étudiée sur le lapin au cours des essais du pouvoir bactéricide, nous avons retrouvé pour les deux sulfamides les données générales suivantes :

L'élimination des sulfamides débute dans les premières heures suivant l'ingestion, elle est surtout importante dans les premières 24 heures et elle est presque achevée après 48 heures pour des

doses de 0 gr. 25 et 0 gr. 50 par kilogramme. Une petite partie seulement de la sulfamide éliminée ($\frac{1}{3}$ de la sulfamide totale excrétée) se trouve à l'état libre et principalement dans les premières heures de l'élimination ; la quantité de sulfamide conjuguée augmente rapidement avec le temps et représente finalement les $\frac{2}{3}$ de la sulfamide totale excrétée.

Le nouveau composé étudié, la glucose sulfanilamide, s'est montré facilement dissocié dans l'organisme ; son élimination se fait sous les deux formes, libre et conjuguée, dans les mêmes proportions que celle de la para-aminobenzène-sulfonamide, mais un peu plus rapidement.

En ce qui concerne plus spécialement l'*élimination en liaison avec l'action bactéricide*, nous avons constaté, pour les deux sulfamides, que le pouvoir bactéricide, quand il se manifeste, apparaît dans l'urine aux moments de la plus forte élimination de la sulfanilamide libre. Cependant, il ne semble pas y avoir de liaison directe entre les quantités de sulfamide présentes dans l'urine et l'action antiseptique. Il ne nous a donc pas été possible de fixer les concentrations de sulfanilamide bactéricides dans les conditions de nos essais.

3° En ce qui concerne la TOXICITÉ GÉNÉRALE, déterminée *per os*, sur la souris, nous avons constaté pour les deux sulfamides une assez faible toxicité.

La dose moyenne léthale de la para-aminobenzène-sulfonamide ou sulfanilamide ordinaire a été, d'après nos essais, comprise entre 5 gr. et 6 gr. par kilogramme.

La glucose sulfanilamide, qui nous a semblé encore moins toxique, a été tolérée sans troubles appréciables, à une dose correspondant à 2 gr. 50 de sulfanilamide par kilogramme.

4° En ce qui concerne l'ACTION IRRITANTE, la sulfanilamide et la glucose sulfanilamide, essayées sur le lapin, aux doses bactéricides, nous ont paru non irritantes pour le rein.

En résumé, la technique d'essai *in vivo* des antiseptiques urinaires nous a permis d'apprécier, dans certaines conditions, l'action bactéricide de la para-aminobenzène-sulfonamide ou sulfanilamide et de la glucose-sulfanilamide, vis-à-vis du colibacille. L'action bactéricide ne s'est pas manifestée vis-à-vis du staphylocoque doré.

La glucose sulfanilamide représente un dérivé sulfamidé intéressant qui, au cours de tous les essais, s'est montré au moins aussi actif que la sulfanilamide elle-même. Son élimination a présenté les mêmes caractéristiques que celle de la sulfanilamide, mais elle semble posséder une toxicité encore plus réduite que la para-aminobenzène-sulfonamide ; comme celle-ci, elle est dépourvue d'action irritante pour le rein, aux doses thérapeutiques.

BIBLIOGRAPHIE

PREMIÈRE PARTIE

Dérivés de la résorcine.

1. ANDERSON (H. H.), DAVID (N. A.) et LEAKE (C. D.). — Oral toxicity of certain alkyl resorcinols in guinea pigs and rabbits. *Proc. Soc. f. exp. Biol. and Med.*, 1931, t. 28, p. 609.
2. AZIM. — *J. Egyptian Med. Assoc.*, 1933, t. 15, p. 635, d'après LAMSON (P. D.) et collab. cf. 45.
3. BAGLIONI (S.). — Beziehungen zwischen physiologischer Wirkung und chemischer Konstitution. *Ztschr. f. allg. Physiol.*, 1903, t. 3, p. 313.
4. BARTLETT (J. F.) et GARLAND (C. E.). — Some cyclohexylphenols and phenolethers. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1927, t. 49, p. 2098.
5. BECHHOLD (H.). — Desinfektion und Kolloid-Chemie. *Ztschr. f. Chem. und Ind. der Kolloid*, 1909, t. 5, p. 22.
6. BECHHOLD (H.) et EURLICH (P.). — Beziehungen zwischen chemischer Konstitution und Desinfektions-Wirkung ; ein Beitrag zum Studium der uneren Asepsis. *Ztschr. f. physiol. Chem.*, 1906, t. 47, p. 173.
7. BERCZELLER (L.). — Stalagmometrische Studien an krystalloiden und kolloiden Lösungen. VII Pharmakologische Wirksamkeit und oberflächenspannungs-erniedrigung. *Biochem. Ztschr.*, 1914, t. 66, p. 202.
8. BIGGAM et GHALIOUNGH. — *J. Trop. Med. a. Hyg.*, 1932, t. 23, p. 353, d'après LAMSON (P. D.) et collab., cf. 45.
9. BILLIARD (G.) et DIEULAFÉ (L.). — Rôle de l'osmose et de la diffusion dans l'action antiseptique. *C. R. Soc. Biol.*, 1904, t. 56, p. 146.
10. BITTENBEDER (W. A.), DEGERING (E. F.) et TETRAULT (P. A.). — Propriétés bactéricides des antiseptiques commerciaux ; l'effet du pH. *Chimie et Industrie*, 1940, t. 43, p. 40.
11. BLEYER (L.). — Über einige Wirkungender Alkylresorcin carbon-

- säuren und ihre Abhängigkeit von der Konstitution der Alkylseitenkette. *Biochem. Ztschr.*, 1927, t. 184, p. 350.
12. BROWN (D. A.). — Hexylresorcinol in infection of the urinary tract. *J. Amer. Med. Assoc.*, 1926, t. 86, p. 668.
 13. BROWN (H. W.). — Effect of Hexylresorcinol upon Ascaris and Hook-worm Eggs. *Proc. Soc. f. exp. Biol. a. Med.*, 1931, t. 28, p. 1036.
 14. CHASSEVANT (A.) et GARNIER (M.). — Rapports entre la constitution chimique des corps et leur toxicité dans la série aromatique (benzène et ses dérivés). *Arch. intern. Pharm. et Thér.*, 1905, t. 14, p. 94.
 15. CHRYSTENSEN (B. V.) et LYNCH (H. J.). — The effects of anthelmintics on the host. I. Tetrachlorethylene. II. Hexylresorcinol. *J. of Pharm.*, 1933, t. 48, p. 311.
 16. CLAPHAM. — *J. Halminth.*, 1932, t. 10, p. 195, d'après LAMSON (P. D.) et collabor., cf. 45.
 17. COULTHARD (C. E.), MARSHALL (J.) et PYMAN (F. L.). — The variation of phenol coefficients in homologous series of phenol. *Jour. Chem. Soc.*, 1930, t. 133, p. 280.
 18. DAVIS (E. G.). — Urinary antiseptis. A study of the antiseptic properties and the renal excretion of compounds related to phenol-sulfonephthaleine. Preliminary report. *J. Amer. Med. Assoc.*, 1918, t. 70, p. 581.
 19. DAVIS (E. G.) et HAIN (R. F.). — Urinary antiseptis. The antiseptic properties of normal dog urine. *J. of Urology*, 1918, t. 2, p. 309.
 20. DAVID (N. A.) et LEAKE (C. D.). — The toxicity and balanticidal action of di-hydranol in guinea-pigs. *Proceed. Soc. f. exp. Biol. a. Med.*, 1930, t. 28, p. 196.
 21. DOHME (A. R. L.), COX (E. H.) et MILLER (E.). — The preparation of the acyl and alkyl derivatives of resorcinol. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1927, t. 48, p. 1688.
 22. EBERBACH (C. W.) et ROY (D.). — *J. Amer. Med. Assoc.*, 1925, t. 89, p. 512, d'après ROBBINS (B. H.), cf. 67.
 23. ELLIOT (T. R.) et BARBOUR (H. G.). — A sensitive test for hexylresorcinol in body fluids and notes on its applications. *Can. Med. Assoc. J.*, 1925, t. 15, p. 787.
 24. FAUST (A. C.). — Experiments on the effect of dihydranol on intestinal protozoa of man and laboratory mammals. *Proceed. Soc. f. exp. Biol. and Med.*, 1930, t. 27, p. 905.
 25. FAUST (E. C.). — In vitro effects of certain drugs on strongyloïdes. *Proceed. Soc. f. exp. Biol. and Med.*, 1931, t. 28, p. 691.
 26. FEIRER (W. A.) et LEONARD (V.). — The stability of hexylresorcinol in pharmaceutical preparations. *J. of Pharmac.*, 1926, t. 28, p. 395.

27. FEIRER (W. A.), MEADER (P. D.) et LEONARD (V.). — Development of the drug fast character in vitro and its bearing upon drug rotation in the managment of chronic urinary infections. *J. of Urology*, 1926, t. 16, n° 2.
28. FROBISHER (M.). — Studies upon the relationship between surface tension and the action of disinfectants with special reference to hexylresorcinol. *J. of Bact.*, 1927, t. 13, p. 163.
29. GREWAL (K. S.). — The action of a soluble derivative of hexylresorcinol. *J. of Pharmac.*, 1932, t. 45, p. 283.
30. HAMPIL (B.). — Bactericidal properties of the acyl and alkyl derivatives of resorcinol. *J. of infect. diseases*, 1928, t. 43, p. 25.
31. HENLINE (R. B.). — Hexylresorcinol in the treatment of 50 cases of infections in the urinary tract. *J. of Urology*, 1925, t. 13, p. 119.
32. HILNEGARDNER (W. S.) et JOHNSON (T. B.). — New phenolic combinations obtained by coupling chaulmoogric acid with resorcinol. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1929, t. 51, p. 1503.
33. HOUBEN (J.) et WOLLENWEBER (H. W.). — Hexylresorcin und phenyläthyl resorcin gegen pflanzen pathogene Pilze. *Biochem. Ztschr.*, 1929, t. 204, p. 448.
34. HURD (C. D.) et FOWLER (G. W.). — Alkoxyalkyl derivatives of resorcinol. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1939, t. 61, p. 249.
35. JOHNSON (T. B.) et HODGE (W. W.). — A new method of synthetizing the higher phenols. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1913, t. 35, p. 1014.
36. JOHNSON (T. B.) et LANE (F. W.). — The preparation of some alkyl derivatives of resorcinol and the relation of their structure to antiseptic properties. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1921, t. 43, p. 348.
37. KLARMANN (E.). — The preparation of 2-4 dihydroxydiphenylmethane and 2-4 dihydroxydiphenylethane. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1926, t. 48, p. 791.
38. KLARMANN (E.). — Further studies on the introduction of alkyl and aryl groups into the nucleus of polyphenols. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1926, t. 48, p. 2358.
39. KLARMANN (E.) et FIGDOR (W.). — The preparation of some alkyl and aryl derivatives of phloroglucinol. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1926, t. 48, p. 803.
40. KLARMANN (E.), GATYAS (L. W.) et SHTERNOV (V. A.). — Bactericidal properties of monoethers of dihydric phenols. I. Monoethers of resorcinol. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1931, t. 53, p. 3397.
41. KLARMANN (E.), SHTERNOV (V. A.) et VON WOWERN (J.). — The germicidal action of halogen derivatives of phenol and resorcinol and its impairment by organic matter. *J. of Bact.*, 1929, t. 17, p. 423.

42. KLARMANN (E.) et VON WOWERN (J.). — The preparation of certain chloro- and bromo-derivatives of 2-4 dihydroxydiphenylmethane and -ethane and their germicidal action. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1929, t. 51, p. 605.
43. LAMBIN (S.). — Méthodes de mesure de l'activité antimicrobienne des substances chimiques. *Thèse Doct. ès Sc. nat.*, Paris, 1933.
44. LAMSON (P. D.), BROWN (H. W.), ROBBINS (B.H.) et WARD (C. B.). — *Amer. J. Hyg.*, 1931, t. 13, p. 803, d'après LAMSON (P. D.), cf. 45.
45. LAMSON (P. D.), BROWN (H. W.) et WARD (C. B.). — Anthelmintics studies on alkylhydrobenzenes. I. Alkylpolyhydroxybenzenes. *J. of Pharmac.*, 1935, t. 53, p. 198.
46. LAUBENHEIMER (K.). — Phenol und seine derivate als Desinfektions-Mitteln. *Wien und Berlin*, 1909.
47. LEONARD (V.). — Secretion of bactericidal urine and disinfection of the urinary tract. *J. Amer. Med. Assoc.*, 1924, t. 83, p. 2005.
48. LEONARD (V.). — The development and clinical application of a synthetic compound possessing the experimental requirements of an ideal internal urinary antiseptic. *J. of Urology*, 1924, t. 12, p. 585.
49. LEONARD (V.) et FEIRER (W. A.). — The bactericidal action of hexylresorcinol in glycerine (with special reference to the influence of surface tension in chemical disinfection). *Bull. of J. Hopkins Hosp.*, 1927, t. 44, p. 21.
50. LEONARD (V.) et FEIRER (W. A.). — Control of intestinal putrefaction in man by oral administration of 2-4 dihydroxyphenyl n-heptane. *Bull. of J. Hopkins Hosp.*, 1931, t. 48, p. 25.
51. LEONARD (V.) et FROBISHER (M.). — Clinical application of hexylresorcinol in urology with observations on the significance of surface tension in urinary antisepsis. *J. of Urology*, 1926, t. 15, n° 1.
52. LEONARD (V.) et WOOD (A.). — The present status of hexylresorcinol as an internal urinary disinfectant. *J. Amer. Med. Assoc.*, 1925, t. 85, p. 1855.
53. MAC CURRY (W. E.). — Hexylresorcinol in *Bacillus Proteus pyelitis*. *J. Amer. Med. Assoc.*, 1925, t. 84, p. 1950.
54. MACKIE. — *United Fruit Co, Med. Dept*, 20^e Ann. Rep., 1931, p. 126, d'après LAMSON (P. D.), cf. 45.
55. MAPLESTONE et CHOPRA. — *Indian J. Med. Res.*, 1934, t. 21, p. 519, d'après LAMSON (P. D.), cf. 45.
56. MAPLESTONE et MUKERJI. — *Indian Med. Gaz.*, 1932, t. 67, p. 455, d'après LAMSON (P. D.), cf. 45.
57. MOORE (M. L.), DAY (A. A.) et SUTER (C. M.). — The preparation

- and germicidal properties of some derivatives of 4-n-butylresorcinol. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1934, t. 56, p. 2456.
58. PAPACONSTANTINO (B.). — The protective action of soaps on Zsigmondy's gold sols. *J. of physical Chem.*, 1925, t. 29, p. 319.
59. POE (Ch. F.) et FEILMANN (H. A.). — The action of hexylresorcinol on bacteria in certain food products. *J. of Bact.*, 1933, t. 25, p. 521.
60. RATCLIFF (H. L.). — The oral administration of certain alkylresorcinols and their effects upon the intestinal protozoa and bacteria of rats and upon intestinal protozoa in chicks. *Amer. J. of Hyg.*, 1929, t. 10, p. 643.
61. RÉGNIER (J.) et LAMBIN (S.). — Contribution à l'étude de la mesure des valeurs antimicrobiennes des substances chimiques. *Bull. Acad. Méd.*, 1931, t. 105, n° 11, p. 455.
62. REIS et BECKMANN. — *Klin. Med.*, 1924, d'après KLEEGER (J.), cf. 132.
63. RETTGER (L.). — *Hale-Bull.* 88, p. 7, Hyg. Lab. U. S. P. H. S., 1913, d'après LEONARD (V.), cf. 48.
64. RETTGER (L. F.), VALLEY (G.) et PLASTRIDGE (W. N.). — Studies on the disinfectant properties of certain alkyl phenols.
I. Normal butylresorcinol. *Centralbl. f. Bakt.*, 1921, I, t. 110, p. 80.
65. RETTGER (L. F.), VALLEY (G.) et PLASTRIDGE (W. N.). — *Idem.*
II. Normal butylphenols. *Centralbl. f. Bakt.*, 1929, t. III, p. 287.
66. RIDEAL (S.) et WALKER (J. T. A.). — The standardisation of disinfectants. *Journ. of the Sanitary inst.*, 1903, t. 24, p. 424.
67. ROBBINS (B. H.). — Quantitative studies on the absorption and excretion of hexylresorcinol and heptylresorcinol under different conditions. *J. of Pharmacol.*, 1931, t. 43, p. 325.
68. ROBBINS (B. H.). — Quantitative studies on the absorption and the excretion of certain resorcinols and cresols in the dog and in the man. *J. of Pharmacol.*, 1934, t. 52, p. 54.
69. ROBBINS (B. H.) et WESSON (L. G.). — A method for the quantitative determination of hexylresorcinol in tissues, blood and excreta. *J. of Pharmacol.*, 1931, t. 43, p. 335.
70. SABALITSCHKA (Th.). — Chemische Konstitution und Wirkung auf Mikroorganismen. *Ztschr. f. Angew. Chem.*, 1928, t. 41, p. 621.
71. SALLE (A. J.) et LAZARUS (A. S.). — Comparison of resistance of bacteria and embryonic tissue to germicidal substances.
IV. Hexylresorcinol. *Proceed. Soc. exper. Biol. a. Med.*, 1935, t. 32, p. 1119.
72. SCHAEFFER (J. M.) et TILLEY (F. W.). — Further investigations of the relation between the chemical constitution and the germi-

- cidal activity of alcohols and phenols. *J. of Bact.*, 1927, t. 14, p. 259.
73. STENZL (H.). — Alkyl- and aralkylresorcinol-carboxylic acids. *Chem. Abstr.*, 1929, t. 23, p. 1217.
74. SUTER (C. M.) et WESTON (A. W.). — The synthetis and bactericidal properties of some 5-n-alkylresorcinols. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1939, t. 61, p. 232.
75. TALBOT (R. H.) et ADAMS (R.). — Alicyclic derivatives of resorcinol. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1927, t. 49, p. 2040.
76. THONNARD-NEUMANN. — *United Fruit Co*, Med. Dept, 20^e Ann., Rep. 1931, p. 122, d'après LAMSON (P. D.), cf. 45.
77. TIFFENEAU (M.). — La pharmacologie en 1930. *Paris médical*, 1930, p. 576.
78. TUBANGHI (M. A.), BASACA (M.) et PASCA (A. M.). — L'emploi de l'hexylresorcinol comme anthelmintique. *Chimie et Industrie*, 1935, t. 34, p. 387.
79. WALTER (C. W.). — Idiosyncrasy to hexylresorcinol. *J. Amer. med. Assoc.*, 1935, t. 104, p. 1897.
80. WRIGHT, BOZICEWICH et UNDERWOOD. — *N. Amer. Vet.*, 1934, t. 12, p. 27, d'après LAMSON (P. D.), cf. 45.
81. WINDISCH (F.). — Hochaktive fur den menschlichen organismus unschädliche Desinfektionsmittel. *Woch. f. Brauerei*, 1929, t. 45, p. 142. *Centralbl. f. Bakt.*, 1929, t. 79, p. 143.
82. WOODWARD, GLENN (J.), KINGERY (L. B.) et WILLIAMS (R. J.). — The fungicidal power of phenol derivatives. II. Strength in the presence of proteins. *J. Labor. a. Clin. Med.*, 1935, t. 20, p. 950.

DEUXIÈME PARTIE

Hexaméthylène tétramine et composés libérant du formol.

83. ABT. — *J. Amer. Med. Assoc.*, 1917, t. 68, p. 1100, d'après SOLL-MANN, cf. 170.
84. ALBANO (G.). — Contribution à l'étude de l'élimination urotropinique dans l'insuffisance rénale. *Riv. ital. di Ginecologia*, 1924, t. I, fasc. 6, p. 529. *Journ. d'Urologie*, 1924, t. 18, n^o 4.
85. BARTELT (F.). — Uber die Behandlung der entzündlichen Erkrankungen der Harn-wege mit Urotropin. *Ztschr. f. klin. Medizin*, 1932, t. 119, p. 711.
86. BLANC (H.). — Comment administrer l'Hexaméthylène tétramine en thérapeutique urinaire ? *Presse médicale*, 1925, n^o 36, p. 591.
87. BORUTTEAU. — *Ztschr. f. exper. Path. u. Ther.*, 1914, t. 16, p. 484, d'après TRENDLENBURG, cf. 174.

88. BOUCHEREAU (P.). — Considérations sur la causticité des phénols et leur toxicité. *Bull. Doct. Pharm.*, 1938, n° 2, p. 33.
89. BOVET (D.) et M^{lle} DEMANCHE. — Recherches sur les antiseptiques urinaires. Le pouvoir antiseptique de l'urine après administration d'urotropine et de ses dérivés. *Annales de l'Institut Pasteur*, 1933, n° 2, p. 237.
90. BRUÈRE (P.) et BOUCHEREAU (P.). — Remarques sur l'action neutralisante, chimique et physiologique, de l'hexaméthylène tétramine, sur le sulfure d'éthyle dichloré (ypérite ou lost). *Journ. Pharm. Chim.*, 1938, t. 28, p. 490.
91. BUCURA. — Über den Uebergang von Arzneistoffen in die Frauenmilch. *Ztschr. f. exp. Path. u. Ther.*, 1907, t. 4, p. 398.
92. BURNAM (C. F.). — An experimental investigation of the value of Hexamethylenamin and allied compounds. *Arch. of Intern. Med.*, 1912, t. 10, p. 324.
93. BUZZELLO (A.). — Über die Behandlung der pyogenen Blutinfektion durch intravenöse Anwendung von Urotropin. *Deutsch. Ztschr. f. Chir.*, 1922, t. 168, p. 61.
94. CALISTI (E.). — Impiego dell'urotropina per l'isolamento del colibacillo dall'acqua. *Diagn. e Tech. di Labor.*, 1931, t. 2, p. 219.
95. CANEGHEM. — Experimentelle Untersuchungen über Urotropinwirkung bei Meningitis. *Münch. med. Wochenschr.*, 1912, t. 59, p. 1574.
96. CANTORNÉ. — Accidents d'ordre anaphylactique au cours d'un traitement par injections intraveineuses d'urotropine. *Journ. de Méd. de Bordeaux*, 10 mai 1924.
97. CARROLL (G.), LEWIS (B.) et KAPPEL (L.). — Urinary Antiseptics Weekly Bull. *St-Louis Med. Soc.*, 1933, t. 6, p. 788.
98. CAUBET (P.). — *Thèse Doct. Med. Bordeaux*, 1921.
99. CHEINISSE (L.). — L'hexaméthylène tétramine est-elle un diurétique ? *Presse médicale*, 24 mars 1923, p. 278.
100. CHEINISSE (L.). — Les injections intraveineuses d'hexaméthylène tétramine dans la rétention post-opératoire d'urine. *Presse médicale*, 11 octobre 1924.
101. CHURCHMANN (J. W.). — The treatment of bacteriuria by internal medication. A clinical and bacteriological study. *Bull. J. Hopkins Hosp.*, 1906, t. 13, p. 189.
102. COLEMAN (W.). — The toxic actions of urotropin ; with report of a case of hematuria and hemoglobinuria following a dose of seven and one-half grains. *Med. News*, N. Y., 1903, t. 83, p. 393.
103. COLLINS (R. J.) et HANZLIK (P. J.). — A colorimetric method for the estimation of free formaldehyde and hexamethylenamin. *Journ. of Biol. Chem.*, 1916, t. 25, p. 231.
104. CROWE (S. J.). — On the excretion of Hexamethylenamin (Urotro-

- pin) in the bile and pancreatic juice. *Arch. intern. Pharmac. et Ther.*, 1908, t. 18, p. 315.
105. DAVIS (P. A.). — Produits toxiques employés dans l'industrie du caoutchouc. L'hexaméthylène tétramine. *Rubber-Age*, New-York, 1929, t. 26, p. 199. *Chimie et Industrie*, 1930, t. 23, p. 623.
106. DAVIS (E.) et SHARPE (J. C.). — A comparison of methenamine, Caprokol, Pyridium and Acriflavin as to clinical efficiency. *Journ. Amer. Med. Assoc.*, 1932, t. 99, p. 2097.
107. DÉTRIE (J.). — Propriétés chimiques et pharmacologiques des iodo-alcoylates d'hexaméthylène tétramine. *Progrès médical*, 1937, n° 21, p. 799.
108. DUPUY DE FRÉNELLE et PAYCHÈRE. *J. de Med. et de Chir.*, août et nov. 1917, d'après BEYTOUT (G.), *Thèse Doct. Pharm.*, Nancy, 1922.
109. DUTHOIT (A.). — Valeur antiseptique de l'hexaméthylène tétramine *in vitro*: *C. R. Soc. Biol.*, 1923, t. 89, p. 656.
110. DUTHOIT (A.). — Pouvoir antiseptique conféré à la bile vésiculaire du chien par l'injection intraveineuse d'hexaméthylène tétramine. *C. R. Soc. Biol.*, 1923, t. 89, p. 658.
111. DE EDS (F.). — Fate of hexamethylenamin in the body and its bearing on systemic antisepsis. *Arch. of intern. Medicin*, 1924, t. 34, p. 511.
112. FALK (K. G.) et SUGIURA (K.). — Some observations on the elimination of hexamethylenetetramin (Urotropin). *J. of Pharm.*, 1916, t. 8, p. 39.
113. FLEIG (C.). — Action vasomotrice de l'urotropine sur le rein. *C. R. Soc. Biol.*, 1907, t. 63, p. 401.
114. FLEXNER (S.) et CLARK (P. F.). — Experimental poliomyelitis in monkeys. Ninth note : Immunity principles ; effects of hexamethylenamin (Urotropin) ; early diagnosis ; virus-carriers. *J. Amer. Med. Assoc.*, 1911, t. 56, p. 585.
115. FOURNEAU (E.) et BOVET (D.). — Les antiseptiques urinaires. Extr. I^{er} Congrès thérapeutique. Paris, 1933.
116. FRASER (F. R.). — Clinical observations of ninety cases of acute epidemic poliomyelitis. *Amer. J. Med.*, 1914, t. 148, p. 1.
117. GAROFEANU (M.) et IOAN (E.). — Sur l'action bactéricide de l'urotropine. *C. R. Soc. Biol.*, 1930, t. 104, p. 222.
118. GAUCHER et BERCOVICI, d'après FOURNEAU (E.) et BOVET (D.), cf. 115.
119. GRADLE (H. S.). — The excretion of urotropin into the anterior chamber of the eye. *Centralbl. Biochem. Bioph.*, 1911, t. 12, p. 764.
120. GUNDRUM (F. F.). — *Calif. St. Journ. Med.*, 1911, t. 9, p. 291, d'après SOLMANN (T.), cf. 170.

121. HALD (P. T.). — Zur Permeabilität der Leptomeningen, besonders Hexamethylentetramin gegenüber. *Arch. f. exper. Path. u. Pharm.*, 1911, t. 64, p. 329.
122. HAMEL (J.). — Traitement d'états toxi-infectieux par l'iodhydrate d'hexaméthylène tétramine éthanol. *Progrès médical*, 1935, n° 35.
123. HANZLIK (P. J.). — *Journ. of Labor. a. Clin. Med.*, 1914, t. I, n° 5.
124. HANZLIK (P. J.) et COLLINS (R. J.). — Hexamethylenamin : The liberation of formaldehyd and the antiseptic efficiency under different chemical and biological conditions. *Arch. of intern. Med.*, 1913, t. 12, p. 578.
125. HANZLIK (P. J.) et DE ENDS (F.). — Influence of various factors on the excretion and decomposition of Hexamethylenamin. *J. of Pharm.*, 1922, t. 19, p. 247.
126. HELMHOLTZ (H. F.). — The effectiveness of methenamin as a urinary antiseptic at various Hydrogen Ion concentration. *Proc. Staff. Meet. May. Clin.*, 1932, t. 7, p. 374.
127. HINMANN (F.). — An experimental study of the antiseptic value in the urine of the internal use of Hexamethylenamin. *J. Amer. Med. Assoc.*, 1913, t. 61, p. 1601.
128. HINMANN (F.). — The value of Hexamethylenamin as in internal antiseptic in other fluids of the body than urine. *Arch. of intern. Med.*, 1914, t. 13, p. 841.
129. HINMANN (F.). — Urinary antiseptis. A clinical and bacteriological study. *J. Amer. Med. Assoc.*, 1915, t. 65, p. 1769.
130. JENNESS (B. F.). — Burnam's test for formaldehyd in the urine. A study of two hundred cases. *J. Amer. Med. Assoc.*, 1913, t. 5, p. 662.
131. JORDAN (A.). — The action of urinary antiseptics. *Biochem. J.*, 1911, t. 5, p. 274.
132. KLEEBOERG (J.). — Über physikalisch-chemische Bedingungen zur Harndesinfektion. *Centralbl. Bakt.*, 1929, t. 112, p. 382.
133. LEBEAU (P.) et GOURTOIS (G.). — Traité de Pharmacie chimique. Paris, Masson, 1938, t. II, p. 350.
134. LECCIA. — *Union Pharmaceut.*, 1927, t. 68, p. 42, d'après LEBEAU (P.), cf. 133.
135. LE GRAND (A.) et SANTENOISE (D.). — Action de l'eurotropine sur l'excitabilité vagale. *C. R. Soc. Biol.*, 1927, t. 97, p. 1481.
136. L'ESPERANCE (O. R. T.). — Excretion of Formaldehyd by the kidneys of Patients taking Hexamethylenamin. *Boston Med. a. Surg. Journ.*, 1912, oct., p. 577.
137. LEVY (L. H.) et STRAUSS (A.). — Clinical and bacterial study of Hexamethylenamin as a urinary antiseptic. *Arch. inter. Med.*, 1914, t. 14, p. 730.

138. LOEB (O.). — Uber experimentelle Arterien veränderungen beim kaninchen durch aliphatische Aldehyde. *Arch. f. exp. Path. u. Pharm.*, 1912, t. 64, p. 114.
139. LOEPER (M.). — L'antisepsis urinaire. *Progrès médical*, 1933, n° 49, p. 2104.
140. MAL GUIGAN (H.) et HESS (C. L.). — Hexamethylenamin. *Arch. of intern. Med.*, 1914, t. 12, p. 853.
141. MACHADO. — *C. R. Soc. Biol.*, 1928, t. 98, p. 1775, d'après LEBEAU (P.), cf. 133.
142. MARIE et BEHAGUE. — Hip joint disease after ingestion of large amounts of Hexamethylenamin. *J. Amer. Med. Assoc.*, 1920, t. 75, p. 350.
143. MILANESI (E.). — Il sinergismo nell'azione inibitrice e battericida dell' urotropina associata all'acido salicilico. *Arch. farmacol. Sper.*, 1927, t. 43, p. 205. *C. A.*, 1927, t. 22, p. 608.
144. MILLER. — *Union Pharmaceut.*, 1912, t. 53, p. 180, d'après LEBEAU (P.), cf. 133.
145. MOSSA et PALEOTTI. — D'après SOLLMANN (T.), cf. 170.
146. NICOLAÏER (A.). — Uber die therapeutische Verwendung des Urotropin (Hexamethylentetramin). *Centralbl. f. d. Med. Wissens.*, 1894, t. 32, p. 897 et *Deutsch. Med. Woch.*, 1895, t. 21, p. 544.
147. NICOLAÏER (A.). — Experimentelles und klinisches über Urotropin. *Ztschr. f. klin. Med.*, 1899, t. 38, p. 350.
148. NICOLAÏER (A.). — Uber Urotropin, Methylenzitronensäure und methylenzitronensaures Urotropin (Helmitol (Bayer), Neuvrotropin (Schering)). *D. Arch. f. kl. Med.*, 1904, t. 81, p. 181.
149. OHIRA (T.). — The bactericidal action of Urotropin. *Centralbl. Bakt. Parasit.*, 1920, t. 85, p. 63.
150. ORLOWSKI. — *Ztschr. f. Klin. Med.*, 1900, t. 40, p. 331, d'après TRENDLENBURG (P.), cf. 174.
151. OUVRY (L.). — Traitement du tétanos par l'association urotropine et sérum. *Bull. Acad. Méd.*, 1931, t. 106, p. 507.
152. PATEIN (M. G.). — Accidents consécutifs à l'ingestion d'urotropine à hautes doses. *Journ. Pharm. Chim.*, 1920, t. 22, p. 190.
153. POE (C. F.) et WILLIAMSON (J. H.). — The action of Hexamethylene-tetramine on members of the colon and aerogenes group. *J. of Bact.*, 1936, t. 32, p. 281.
154. REMELÉ (J.). — Uber den Uebergang von Urotropin in das Kammerwasser und die dort stattfindende Abspaltung von Formaldehyd. *Arch. f. Ophthal.*, 1915, t. 90, p. 426.
155. RIEDER (K.). — Quantitative excretion of Urotropin in human milk. *C. A.*, 1913, t. 17, p. 1057.
156. ROMANI et BOSMIN. — 1^{er} Congrès de la Société italienne d'Urologie,

- Florence, 24 oct. 1922, cité par H. BLANC dans *Presse médicale*, 1925, p. 591.
157. RUH (H. O.) et HANZLIK (P. J.). — Hexamethylenamin as a diuretic. *J. Amer. Med. Assoc.*, 1922, t. 79, p. 1980.
158. RUTKOLDT (R.). — Verhandlungen der deutsch. pharm. gesellsch., 1927, p. 111, cité dans *Bull. Sc. Pharm.*, 1929, t. 36, p. 270.
159. SAAD (B.). — L'hexaméthylène tétramine n'est pas un diurétique. *Presse médicale*, 1923, 27 juin, p. 577.
160. SALKOWSKI (E.). — Zum Verhalten des Urotropins und Formaldehyds im Organismus. *Biochem. Ztschr.*, 1918, t. 87, p. 143.
161. SCHMID (J.) et SCHROETER (F.). — *Biochem. Centralbl.*, 1910, t. 10, p. 132, d'après SOLLMANN (T.), cf. 170.
162. SCHMIDT. — Die Cystis und Nephritis unserer Haustiere und ihre Behandlung mit Urotropin. *Dis. Giessen*, 1909.
163. SCHROEDER (H. O.). — On the action of various uric acid eliminants upon experimental uric acid storage in the kidney. *J. of Pharm.*, 1932, t. 46, p. 461.
164. SCHRÖTER (F.). — Zur Methodik der quantitativen Bestimmung des Hexamethylen tetramins (Urotropins) im Harm. *Arch. f. exper. Path. u. Pharm.*, 1911, t. 64, p. 161.
165. SHATTUCK (F. C.). — Hexamethylenamin as a possible preventive of pneumococcus empyema. *Boston Med. and S. J.*, 1911, t. 164, p. 842 et *Trans. Assoc. Am. Physiol.*, 1911, t. 26, p. 87.
166. SHERIF (M. A. F.). — The liberation of formaldehyde in the aqueous humour of the eye after administration of Hexamine (Urotropine). *J. of Pharmacol.*, 1930, t. 38, p. 231.
167. SHOHL (A. T.) et DEMING (C. L.). — Hexamethylenamin : its quantitative factors in therapy. *J. of Urol.*, 1920, t. 4, p. 419.
168. SIMON (D. L.). — *Ref. Ther. Mon.*, 1914, t. 28, p. 544, d'après SOLLMANN (T.), cf. 170.
169. SMITH (G. G.). — The excretion of formalin in the urine ; an inquiry into the accuracy of Burnham's test. *Boston Med. and Surg. Journ.*, 1913, 15 mai.
170. SOLLMANN (T.). — A manual of Pharmacology, 4^e édition, Philadelphia and London, Saunders Company, 1932.
171. THOMAS (B. A.) et WANG (I. K.). — Studies on the comparative clinical values of various so-called urinary antiseptics. *J. of Urol.*, 1929, t. 22, p. 22.
172. TOUSSAINT (G.), VERAÏN (H.) et GOETZ (R.). — Comparaison du pouvoir antiseptique de l'hexaméthylène tétramine et de l'iodhydrate d'hexaméthylène tétramine éthanol. *C. R. Soc. Biol.*, 1934, t. 117, p. 194.
173. TRENDLENBURG (P.). — Quantitative Messungen über die Spal-

- tung des Hexamethylen tetramins. *Biochem. Ztschr.*, 1919, t. 95, p. 146.
174. TRENDLENBURG (P.). — Ammoniak derivate (Hydroxylamin, Hydrazin) aliphatische Amine und Amide, Aminosäuren. *Heffter. Handbuch der experimentellen Pharmakologie*, 1923, t. I, p. 534.
175. VINDEVOGEL. — *Ann. Soc. Roy. Sc. Méd. et nat. de Bruxelles*, 1902, t. II, p. 20, cité par FOURNEAU (E.) et BOVET (D.), cf. 115.
176. VOIT (K.). — Zur Frage des qualitativen und quantitativen Nachweisses des Formaldehyds im Harn nach Zuführung von Urotropin. *Arch. f. exper. Path. u. Pharm.*, 1922, t. 95, p. 124.
177. WALTHER (H. W. E.). — Urinary Antisepsis. Historical review and present evaluation. *J. Amer. Med. Assoc.*, 1937, t. 109, p. 999.
178. WIGGS. — D'après SOLLMANN (T.), cf. 170.
179. WILSON (J. W.). — Selective media for isolation, cultivation and differentiation of *Bacillus coli* and *B. lactis aerogenes*. *Journ. Hyg.*, 1933, t. 33, p. 404.
180. YMAZ (L.) et AYERZA (L.). — *Pensa. medica argentina*, 1918 et *Bull. therap.*, 1920, t. 171, p. 395, d'après LEBEAU (P.), cf. 133.
181. YOUNG. — The value of drugs in urology. *J. Amer. Med. Assoc.*, 1921, t. 77, p. 1327.
182. ZAK. — Ueber neue Anwendungsgebiete des Hexamethylentetramins auf grund seiner Ausscheidung. *Wiener Klin. Woch.*, 1912, t. 25, p. 151.

TROISIÈME PARTIE

Sulfamides.

183. ADAIRE (F. L.), HESSELTINE (H. C.) et HAC (L. R.). — Experimental study of behavior of sulfanilamide. *J. Amer. Med. Assoc.*, 1938, t. 111, p. 766.
184. ALYEA (E. P.), DANIEL (W. E.) et YATES (A.). — Sulfanilamide and disulfanilamide concentrations in the blood and urine. *J. of Urol.*, 1939, t. 41, p. 14.
185. BARKER (R. H.). — Placental transfer of sulfanilamide. *New England J. Med.*, 1938, t. 219, p. 41.
186. BARLOW (O. W.). — Relative toxicities and therapeutic values of three chemotherapeutic agents of the sulphonamide type. *Proceed. Soc. Exp. Biol. and Med.*, 1937, t. 37, p. 315.
187. BETTMANN (R.) et SPIER (E.). — Concentration of sulfanilamide in human bile. *Proceed. Soc. exp. Biol. and Med.*, 1939, t. 41, p. 463.
188. BLISS (E. A.) et LONG (P. H.). — The failure of para-aminobenzene

- sulfonamide therapy in urinary tract infections due to group D (Lancefield) Beta hemolytic streptococci. *New England Journ. of Med.*, 1937, t. 217, p. 18.
189. BLOCH (M. J.). — Contribution à l'étude clinique des organo-soufrés. Traitement de la colibacillose urinaire par les sulfamides et le benzylaminophénylsulfamide. *Thèse Doct. Médecine*, Paris, 1939.
- 189 bis BRATTON (A. C.) et MARSHALL (E. K.). — A new coupling component for sulfanilamide determination. *Jour. of biol. Chem.*, 1939, t. 128, p. 537.
190. BUTTLE (G. A. H.). — Discussion of the treatment of bacterial diseases with substances related to sulphanilamide. *Proceed. of the Royal Society of the Medicine*, 1937, t. 31, p. 154.
191. BUTTLE (G. A. H.), GRAY (W. H.) et STEPHENSON (D.). — Protection of mice against streptococcal and other infections by p. aminobenzene-sulphonamide and related substances. *Lancet*, 1936, t. 230, p. 1286.
192. BUTTLE (G. A. H.), PARISH (H. J.), MAC LEOD (M.) et STEPHENSON (D.). — The chemotherapy of typhoid and some other non-streptococcal infections in mice. *Lancet*, 1937, t. 231, p. 681.
193. BUTTLE (G. A. H.), STEPHENSON (D.), SMITH (S.) et FORSTER (G. E.). — The treatment of streptococcal infections in mice with 4-4' diamino-diphenylsulfone. *Lancet*, 1937, t. 232, p. 1331.
194. CARRYER (H. M.) et IVY (A. C.). — Studies on the excretion of sulfanilamide by the digestive glands. *J. of Pharm.*, 1939, t. 66, p. 302.
195. CHABROL (E.), COTTET (J.) et SALLET (J.). — Recherches sur la répartition viscérale des produits sulfamides. *C. R. Soc. Biol.*, 1939, t. 121, p. 489.
196. COKKINIS (A. J.). — Sulphonamide chemotherapy in genito urinary, (non-gonococcal) infections. *British Med. Journ.*, 1938, t. 1, p. 1151.
197. COKKINIS (A. J.). — Sulphonamide Chemotherapy in surgical infections. II. *British Med. Journ.*, 1938, t. 2, p. 901.
198. COOK (E. N.) et BUCHTEL (H. A.). — The use of sulfanilamide (Prontylin) in urinary infections. *Proceed. St. Meet. Mayo-Clinic*, 1937, t. 12, p. 381.
199. COOPER (F. B.), GROSS (P.) et LEWIS (M.). — Sulfonamide therapy of experimental peritonitis due to E. Coli, B. proteus and B. pyocyaneus. *Proceed. of the Soc. f. exp. Biol. a. Med.*, 1939, t. 40, p. 34.
200. CUTHBERT (J. C.). — The treatment of urinary infections in the puerperium. *Lancet*, 1938, t. 235, p. 720.
201. DAINOW (I.) et ZIMMET (D.). — Hypovitaminose C localisée au

- testicule, au foie et au cerveau par les dérivés benzéniques du soufre. *C. R. Soc. Biol.*, 1939, t. 130, p. 846.
202. DIGONNET (L.). — Le passage du p. aminophénylsulfamide (1162 F) à travers le placenta. *C. R. Soc. Biol.*, 1939, t. 130, p. 1085.
203. DOMAGK (G.). — Ein Beitrag zur Chemotherapie der bakteriellen Infektionen. *Deutsch. Mediz. Woch.*, 1935, t. 61, p. 250.
204. DOMAGK (G.). — Chemotherapie der bakteriellen Infektionen. *Ang. Chem.*, 1935, t. 48, p. 657.
205. DOMAGK (G.). — Untersuchungen über den Wirkungsmechanismus des Prontosil bei der experimentellen Streptokokken infektion. *Ztschr. f. Klin. Med.*, 1937, p. 132, p. 775.
206. DUCHATEL (M.). — Considérations sur les accidents de la sulfamidothérapie. *Thèse Doct. Médecine*, Paris, 1940.
207. DUREL (P.). — Thérapeutique sulfamidée. *Baillière et fils*, Paris, 1940.
208. DYKE (W. J. C.). — The relative oral toxicities for mice of the isomeric aminobenzene sulfonamides. *The pharmaceut. Journ.*, 1937, t. 85, p. 104.
209. FARRELL (J. I.), LYMAN (Y.) et YOUNG (G. P.). — The rationale of sulfanilamide in gonococcal urethritis. *J. of Amer. Med. Assoc.*, 1938, t. 110, p. 1176.
210. FEINSTONE (W. H.), BLISS (E. A.), OTT (E.) et LONG (P. H.). — Observations concerning the toxicity, absorption and therapeutic effect of sulphanilamide and certain related organic sulphur containing compounds in experimental infections in mice. *Bull. of the Johns Hopkins Hospital*, 1938, t. 62, p. 565.
211. FILDES (P.). — *Brit. J. exp. Pathol.*, 1940, t. 21, p. 67 et *Lancet*, 1940 p. 955, d'après C. LEVADITI et R. PERAULT, cf. 251.
212. FINDLAY (G. M.). — Recent advances in chemotherapy. 2nd ed London. Churchill, 1938.
213. FISCHER (A.). — Beiträge zur chemotherapie der streptokokkeninfektion. *Arch. intern. Pharmacod.*, 1937, t. 56, p. 131.
214. FLEMING (A.). — Observations on bacteriostatic action of sulphanilamide and M et B 693 and on influence thereon of bacteria and peptone. *J. Pathol. Bact.*, 1940, t. 50, p. 69.
215. FOURNEAU (E.), TRÉFOUËL (J. et M^{me} J.), NITTI (F.) et BOVET (D.). — Chimiothérapie des infections streptococciques par les dérivés du p. aminophénylsulfamide. *C. R. Soc. Biol.*, 1936, t. 122, p. 258.
216. FULLER (A. T.). — Is p. aminobenzene sulphonamide the active agent in prontosil therapy. *Lancet*, 1937, t. 232, p. 194.
217. GARROD (L. P.). — The chemotherapy of bacterial infections. *Lancet*, 1938, t. 234, p. 1125 et 1178.

218. GARVIN (C.). — Complications following administration of sulfanilamide. *J. Amer. Med. Assoc.*, 1939, t. 113, p. 288.
219. GEILING (E. M. K.), COWN (J. M.) et SCHOEFFEL (E. W.). — Elixir of sulfanilamide Massengill. *J. of Amer. Med. Assoc.*, 1937, t. 109, p. 532.
220. GESSLER et LIPPIENS. — Emploi du sulfamide dans les infections urinaires par le colibacille. *Presse médicale*, 1939, t. 47, p. 124.
221. GREEN (D. F.), ALLISSON (J. B.) et MORRIS (M. L.). — The renal excretion of sulfanilamide in dogs. *J. Pharm. exp. ther.*, 1938, t. 64, p. 263.
222. GREEN (H. N.). — The mode of action of sulphanilamide with special reference to a bacterial growth stimulating factor (« P » factor) obtained from *Br. abortus* and other bacteria. *Brit. J. exp. Path.*, 1940, t. 21, p. 38.
223. GORDOWSKI. — Etude comparative de la résorption du p. amino-phényl-sulfamide ou 1162 F et de son élimination après administration par voie buccale et par voie rectale. *Thèse Doct. Médecine*, Paris, 1938.
224. GOURNAY (J. J.) et LE BALC'H (M. Y.). — Contribution à l'étude clinique des antistreptococciques non azoïques. *Biologie médicale*, suppl. 1937, p. 6.
225. HAGEMAN (P. O.). — Toxicity of sulfanilamide. A study of the pathological lesions in white mice. *Proc. Soc. f. exp. Biol. a. Med.*, 1937, t. 37, p. 419.
226. HALPERN (B. N.) et MAYER (R. L.). — Toxicité expérimentale comparée de quelques substances antistreptococciques. *Presse médicale*, 1937, n° 40, p. 747.
227. HANSEN (J. L.). — Sulfanilamid bei Harn infektion. *Nordisk. Med.*, 1939, t. 48, p. 3504.
228. HANSEN (L.). — Sulfanilamide concentration and distribution in blood and urine in sulfanilamide therapy for gonococcic infections in men. *J. Pharmacol. a. exper. Ther.*, 1939, t. 65, p. 372.
229. HARVIER (P.) et PERRAULT (M.). — Etat présent de la chimiothérapie antibactérienne par les produits sulfamidés (azoïques ou non azoïques). *Paris médical*, 1937, t. 105, p. 465.
230. HARVIER (P.) et PERRAULT (M.). — La thérapeutique en 1940. I. Sulfamidothérapie. *Paris médical*, 1940, p. 481.
231. HAWKING. — Pharmacological actions of sulphanilamide. *Lancet*, 1937, t. 233, p. 1019.
232. HELMHOLTZ (H. F.). — Bactericidal power of urine after administration of Prontylin by mouth. *Proc. Staff Meet. Mayo Clinic*, 1937, t. 12, p. 244.
233. HELMHOLTZ (H. F.). — A comparison of mandelic acid and sul-

- fanilamide as urinary antiseptic. *J. Amer. Med. Assoc.*, 1937, t. 109, p. 1039.
234. HELMHOLTZ (H. F.). — Vergleich organischer Säuren und Sulfanilamid als Urinantiseptica. *Acta Paediatrica*, 1938, t. 23, p. 1.
235. HELMHOLTZ (H. F.) et OSTERBERG (A. E.). — Rate of excretion and bactericidal power of sulfanilamide (prontylin) in the urine. *Proc. Staff Meet. Mayo Clinic*, 1937, t. 12, p. 377.
236. HELMHOLTZ (H. F.) et OSTERBERG (A. E.). — The effect of pH of the urine on concentration of free and conjugated sulfanilamide necessary for bactericidal action. *Proc. Staff Meet. Mayo Clinic*, 1937, t. 12, p. 661.
237. HELSPER (A.). — Untersuchungen über Beeinflussung der experimentellen Coli-infektion durch Prontosil. *Centralbl. f. Bakt.*, 1939, t. 143, p. 359.
238. HERROLD (R. D.). — Treatment of gonorrhea and other infections in the urinary tract with sulfanilamide. *Urol. and Cutan. Rev.*, 1937, t. 41, p. 468.
239. HERROLD (R. D.). — Present status of the oral administration of urinary antiseptics. *Urol. and Cutan. Rev.*, 1938, t. 42, p. 555.
240. HUBER (H. G.). — Über Prontosil der Behandlung der Kindlichen Pyurie. *Münch. Med. Wschr.*, 1937, t. 83, p. 2014.
124. HUG (E.). — Elimination de la sulfanilamide par les sécrétions salivaires, pancréatique et prostatique. *C. R. Soc. Biol.*, 1940, t. 134, p. 163.
242. IMHAUSER (K.). — Ueber die Behandlung septischer Erkrankungen mit Prontosil. *Med. Klin.*, 1935, t. 31, p. 282.
243. KENNY (M.), JOHNSTON (F. D.) et VON HAEBLER (T.). — Para-amino-benzene-sulphonamide in treatment of Bacterium coli infections of the urinary tract. *Lancet*, 1937, t. 233, p. 119.
244. KLEE (P.) et RÖMER (H.). — Prontosil bei Streptokokken-erkrankungen. *Deutsch. Med. Wschr.*, 1935, t. 61, p. 253.
245. KLEIN. — *Med. Klin.*, 1936, t. 32, p. 940, d'après LONG et BLISS, cf. 254.
246. KOLMER (A. J.) et RULE (A. M.). — Sulfanilamide and sulfapyridine in treatment of experimental « B. Coli (Escherichia Coli) » infections of mice. *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.*, 1939, t. 42, p. 307.
247. LEE (H. M.), ANDERSON (R. C.) et CHEN (K. K.). — Passage of sulfanilamide from mother to foetus. *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.*, 1938, t. 38, p. 366.
248. LEGROUX (R.) et NITTI (F.). — Etudes de laboratoire sur l'action antibactérienne du paraaminophénylsulfamide (1162 F). *Presse médicale*, 1940, nos 93-94, p. 960.

249. LEREBoullet (P.). — L'emploi des sulfamides dans certaines infections urinaires. *Paris médical*, 1939, nos 44-45, p. 264.
250. LEVADITI (C.) et PERAULT (R.). — Mode d'action des sulfamides. *Presse médicale*, 1941, no 108, p. 1336.
251. LEVADITI (C.) et PERAULT (R.). — Mécanisme d'action des sulfamides, des sulfones et des sulfoxydes. Phénomène de Woods. *C. R. Soc. Biol.*, 1941, t. 135, p. 1043.
252. LITCHFIELD (J. J.). — The effects of sulfanilamide on the lower vertebrates. *J. of Pharmacol. a. exp. Ther.*, 1939, t. 67, p. 212.
253. LONG (P. H.) et BLISS (E. A.). — Observations upon the mode of action and clinical use of sulfanilamide in urinary tract infections. *South Med. J.*, 1938, t. 31, p. 308.
254. LONG (P. H.) et BLISS (E. A.). — The clinical and experimental use of sulfanilamide, sulfapyridine and allied compounds. *The MacMillan Company*. New-York, 1939.
255. LUCAS (C. C.). — Human response to single doses of sulphanilamide. *Canad. Med. Assoc.*, 1938, t. 39, p. 111.
256. LUCAS (C. C.) et MITCHELL (D. R.). — A biochemical study of patients on sulphanilamide therapy. *Canad. Med. Assoc.*, 1939, t. 40, p. 27.
257. LURIA (S.). — Action du para-aminobenzène sulfamide sur le Bact. Coli. *C. R. Soc. Biol.*, 1939, t. 131, p. 429.
258. LWOFF (A.), NITTI (F.), TRÉFOUËL (M^{me} J.) et HAMON (M^{lle} V.). — Recherches sur le sulfamide et les antisulfamides. I. Action du sulfamide sur le flagellé *Polytomella Caeca*. II. Action anti-sulfamide de l'acide p. aminobenzoïque en fonction du pH. *Ann. Inst. Pasteur*, 1941, t. 67, p. 9.
259. LWOFF (A.), NITTI (F.) et TRÉFOUËL (M^{me} J.). — Recherches sur le sulfamide et les antisulfamides. III. Action du sulfamide sur le développement d'*Escherichia Coli* et de *Proteus vulgaris* X₁₉. *Ann. Inst. Pasteur*, 1941, t. 67, p. 173.
260. MAGHELLA (T. E.) et HIGGINS (G. M.). — Anemia induced in rats by means of sulphanilamide. *Amer. J. M. Sc.*, 1939, t. 198, p. 804.
261. MAC INTOSH (J.) et WHITBY (L. E. H.). — Mode of action of drugs of sulphonamide group. *Lancet*, 1939, t. 236, p. 431.
262. MARAUN. — Zur Protosilbehandlung des Erysipels und der Pyurie. *Kinderärztl Praxis*, 1936, t. 7, p. 445.
263. MARSHALL (E. K.). — Determination of sulfanilamide in blood and urine. *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.*, 1937, t. 36, p. 422 et *J. of Biol. Chem.*, 1937, t. 122, p. 263.
264. MARSHALL (E. K.). — Bacterial chemotherapy. The pharmacology of sulfanilamide. *Physiol. Rev.*, 1939, t. 19, p. 240.
265. MARSHALL (E. K.). — Pharmacology of sulfanilamide. *J. of Urol.*, 1939, t. 41, p. 8.

266. MARSHALL (E. K.), EMERSON (K.) et CUTTING (W. C.). — Para-amino-benzene sulfonamide : absorption and excretion ; method of determination in urine and blood. *J. Amer. Med. Assoc.*, 1937, t. 108, p. 953.
267. MARSHALL (E. K.), EMERSON (K.) et CUTTING (W. C.). — The renal excretion of sulfanilamide. *Journ. of Pharmacol.*, 1937, t. 61, p. 191.
268. MARSHALL (E. K.), EMERSON (K.) et CUTTING (W. C.). — The distribution of sulfanilamide in the organism. *Journ. of Pharmacol.*, 1937, t. 61, p. 196.
269. MARSHALL (E. K.), CUTTING (W. C.) et AMERSON (K.). — Acetylation of p.aminobenzene sulfonamide in the animal organism. *Science*, 1937, t. 85, p. 202.
270. MARSHALL (E. K.), CUTTING (W. C.) et EMERSON (K.). — The toxicity of sulfanilamide. *Journ. of Amer. Med. Assoc.*, 1938, t. 110, p. 252.
271. MARSHALL (E. K.), CUTTING (W. C.) et COVER (W. L.). — The absorption and excretion of certain sulfanilamide derivatives. *Bull. of the Johns Hopkins Hosp.*, 1938, t. 63, p. 318.
272. MARSHALL (E. K.) et CUTTING (W. C.). — Absorption and excretion of sulfanilamide in the mouse and rat. *Bull. of Johns Hopkins Hosp.*, 1938, t. 63, p. 328.
273. MARTIN (R.) et DELAUNAY (A.). — Incidents et accidents de la thérapeutique par les dérivés organiques du soufre (1162 F, 1399 F, etc.). *Annales médico-chirurgicales*, 1938, t. III, n° 3, p. 105.
274. MAYER (R. L.). — Activité de l' α (p.aminophénylsulfamido) pyridine dans les infections colibacillaires et staphylococciques de la souris. *C. R. Soc. Biol.*, 1938, t. 129, p. 481.
275. MEISSNER (W.). — Erfahrungen mit Prontosil bei der Behandlung von entzündlichen Erkrankungen der ableitenden Harnwege. *Med. Klin.*, 1937, t. 33, p. 95.
276. MELLON (R. R.) et SHINN (L. E.). — Potentiating influence of urine on sulfanilamide's bacteriostatic effect on *E. Coli in vitro*. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1937, t. 37, p. 331.
277. MELLON (R. R.) et SHINN (L. E.). — Limiting factors of sulfanilamide's action and the phenomene of potentiation. *Journ. of Bact.*, 1938, n° 35, p. 36.
278. MOLITOR (H.) et ROBINSON (H.). — Some pharmacological and toxicological properties of sulfanilamide and benzyl-sulfanilamide. *J. of Pharm. a. exp. Ther.*, 1939, t. 65, p. 405.
279. MOSSINI (A.). — Sopra alcuni sali organici della p.aminobenzen-

- sulfonamide e della aminobenzensulfonamide-benzen-sulfon dimethylamide. *Boll. chim. farmac.*, 1939, t. 78, p. 429.
280. MURAYAMA (F.) et LEAKE (C.). — The acute and chronic toxicity of sulfanilamide in rats. *J. of Pharm.*, 1938, t. 63, p. 29.
281. NERB (L.), TURRELL (R.) et MARTIN MARINO (A. W.). — Absorption of sulfanilamide from the colon of rabbits. *Brooklyn Hosp. J.*, 1939, t. I, p. 88 et *Ber. über d. ges. Phys. u. Exper. Pharmak.*, 1939, t. 114, p. 506.
282. NETER (E.). — Demonstration of bacteriostatic action of sulfanilamide upon hemolytic streptococci *in vitro*. *J. Lab. clin. Med.*, 1939, t. 24, p. 650.
283. NETER (E.), WEINTRAUB (D. H.) et DAYMAN (A. L.). — Concentration of sulfanilamide in spinal fluid and blood following single intrathecal injection of drug. *Proc. Soc. Exp. Bio. and Med.*, 1939, t. 40, p. 164.
284. NITTI (F.), BOVET (D.) et DEPIERRE (F.). — Action des dérivés du p. aminophénylsulfamide (1162 F) sur les streptocoques hémolytiques *in vitro*. *C. R. Soc. Biol.*, 1937, t. 124, p. 16.
285. NITTI (F.) et PALAZZOLI (M.). — Sur la présence de corps antisulfamides dans l'urine humaine. *C. R. Ac. Sc.*, 1940, t. 211, p. 643.
286. PALAZZOLI (M.). — Action du p. aminobenzene sulfamide sur la colibacilliose urinaire. *Ann. médico-chirurgicales*, 1938, t. 3, p. 102.
287. PERNICE (W.). — Über die Behandlung der kindlichen Pyurie mit Protosil. *Kinderärztl Praxis*, 1936, t. 7, p. 304.
288. PINTO (S. S.). — Excretion of sulfanilamide and acetylsulfanilamide in human milk. *J. Amer. Med. Assoc.*, 1938, t. 111, p. 1914.
289. POE (Ch. F.) et WITT (P. C.). — Toxicity of sulfanilamide and diethylene glycol. *Proc. Soc. exp. Biol. a. Med.*, 1937, t. 37, p. 559.
290. RAIZISS (G. W.), SEVERAC (M.) et MOETSCH (J. C.). — Chemotherapeutic studies of sulfamidyl (p. aminobenzene sulfonamide) in experimental β hemolytic streptococcal infections. *Journ. of Chemother.*, 1937, t. 14, p. 1.
291. RAVINA (A.). — Indications et accidents du para-aminobenzène-sulfamide. *Presse médicale*, 1938, n° 18, p. 332.
292. RENNER (A.). — Die Behandlung der Zystitis und Pyelitis. *Ther. d. Gegenw.*, 1936, t. 77, p. 443.
293. RICHARDSON (A.). — Cyanosis in chicken, pigeons and mice induced by sulfanilamide. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1939, t. 65, p. 445.
294. RICHARDSON (A.). — The production of anemia in white mice by sulfanilamide, sulfapyridine and diaminodiphenylsulfone. *J. of Pharm. a. exp. Ther.*, 1939, t. 67, p. 429.
295. RIMINGTON (C.). — Porphyrinuria following sulphanilamide ; sulphanilamide dermatitis. *Lancet*, 1938, t. I, p. 770.

296. RISER (M.) et VALDIGUIE (P.). — Sur le passage des dérivés sulfamidés dans les centres nerveux. *C. R. Soc. Biol.*, 1939, t. 130, p. 619.
297. ROSENTHAL (S. M.). — Studies in chemotherapy. III. The effect of p.aminobenzene sulfonamide on pneumococci *in vitro*. *Publ. Health Rep.*, 1937, t. 52, p. 192.
298. ROSENTHAL (S. M.). — Studies in chemotherapy. Some toxic effects of repeated administration of sulfanilamide and sulfanilyl sulfanilamide (disulfanilamide) to rabbits and chicken. *Publ. Health Rep.*, 1939, t. 54, p. 95.
299. ROSENTHAL (S. M.). — Experimental chemotherapy with sulfanilamide and related compounds. *J. Amer. Med. Assoc.*, 1939, t. 113, p. 1710.
300. SCHNOHR (E.) et ESKJAER (J.). — Über die Behandlung von Infektionen der Harnwege mit sulfanilamid, M et B 693, und mandelsauren Calcium. *Nordisk. Med.*, 1939, t. 4, p. 3125.
301. SCUDI (J.). — The determination of sulfanilamide (p.aminobenzene sulfonamide) in biological media. *J. of biol. Chem.*, 1938, t. 122, p. 539.
302. SCUDI (J.) et RATISH (H. D.). — Urinary excretion of a single doses of sulfanilamide. *J. Lab. a. Clin. Med.*, 1938, t. 23, p. 615.
303. SELBIE (F.). — The inhibition of the action of sulphonamide in mice by p.aminobenzoic acid. *Brit. J. exp. Path.*, 1940, t. 21, p. 90.
304. SICKLER (J. R.). — Effect of pH on bactericidal power of urine containing sulfanilamide. *Proc. Staff Meet. Mayo Clin.*, 1939, t. 14, p. 715.
305. SISE (H. S.). — Distribution of sulfanilamide and acetylsulfanilamide between cells and extracellular fluid. *Proc. Soc. exp. Biol. Med.*, 1939, t. 40, p. 451.
306. SPEERT (H.). — The passage of sulfanilamide through the human placenta. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1938, t. 63, p. 337.
307. SPINK (W. W.). — Bactericidal effect of sulfanilamide upon pathogenic and non-pathogenic staphylococci. *J. Immunol.*, 1939, t. 37, p. 345.
308. STAMP (T. C.). — Bacteriostatic action of sulphanilamide *in vitro*. Influence of fractions isolated from haemolytic streptococci. *Lancet*, 1939, t. 2, p. 10.
309. STEWART (J. D.), ROURKE (G. M.) et ALLEN (J. G.). — Excretion of sulfanilamide. *J. Amer. Med. Assoc.*, 1938, t. 110, p. 1885.
310. STRAUSS (M. B.) et SOUTHWORTH (H.). — Urinary changes due to sulfanilamide administration. *Bull. Johns Hopkins Hosp.*, 1938, t. 63, p. 41.
311. SUPNIEWSKI (J. W.) et HANO (J.). — Über die Pharmakodynamik des p.sulfamidoaminobenzolhydrochlorids. *Bull. intern. Aca.*

- Pol. Sci. Cl. Med.*, 1936, p. 99, in *Ber. D. G. Physiol.*, 1937, t. 99, p. 665.
312. TEMING. — *Kinderärztl. Praxis*, 1935, t. 6, p. 400, d'après LONG et BLISS, cf. 254.
313. TRÉFOUËL (J.). — De la chimiothérapie antiprotozoaire à la chimiothérapie antibactérienne. *Bull. Inst. Pasteur*, 1938, t. 36, p. 385.
314. TRÉFOUËL (J. et M^{me} J.), NITTI (F.) et BOVET (D.). — Activité du p. aminophénylsulfamide sur les infections streptococciques expérimentales de la souris et du lapin. *C. R. Soc. Biol.*, 1935, t. 120, p. 756.
315. TURELL (R.), MARTIN MARINO (A. W.) et NERB (L.). — Observations concerning the absorption of sulfanilamide from the large intestine in man. An experimental study. *Brooklyn Hosp. J.*, 1939, t. I, p. 90.
316. TÜRK (H.). — Die Behandlung der Kolipyelozystitis mit Prontosil. *Münch. Med. Wschr.*, 1937, t. 2, p. 1259.
317. UNSHELM (E.). — Zur Behandlung der kindlichen Pyurie. *Arch. f. Kinderheilkunde*, 1936, p. 109, cité dans *Müch. Med. Wschr.*, 1936, n° 52, p. 2132.
318. VENCO (L.). — Sulla presenza della sulfanilamide nel liquido lacrimale nell'umore acqueo e nel vitreo dopo somministrazione dei derivati organici della zolfo ad azione antibatterica. *Ann. Ottalm.*, 1939, t. 67, p. 30.
319. VONKENNEL et SCHMIDT (W.). — Die Permeabilität der Blut-Liquorschanke für sulfonamide. *Klin. Wschr.*, 1939, t. 18, p. 150.
320. WALTHER (H. W. E.). — Urinary Antiseptics. Historical review and present evaluation. *J. Amer. Med. Assoc.*, 1937, t. 109, p. 999.
321. WEBB (T. J.) et KNAZUK (M.). — Spectrophotometric examination of blood from animals receiving sulfanilamide. *Journ. Biol. Chem.*, 1939, t. 128, p. 511.
322. WEINGARTEN (H.). — *Med. Klin.*, 1937, n° 28 et *Paris médical*, 1938, n° 48, p. 401.
323. WEISER (A.). — Prontosil bei Infektionen der Harnwege. *Med. Klin.*, 1937, t. 33, p. 674.
324. WOLFF (L. K.) et JULIUS (H. W.). — Action du sulfanilamide *in vitro* et *in vivo*. *Ann. Inst. Pasteur*, 1939, t. 62, p. 616.
325. WOODS (D. D.). — The relation of p. aminobenzoic acid to the mechanism of the action of sulphonamide. *Brit. J. exp. Path.*, 1940, t. 21, p. 74.
326. WOODS (D. D.) et FIELDS (P.). — The anti-sulphanilamide activity (*in vitro*) of p. aminobenzoic acid and related compounds. *Chem. and Indus.*, 1940, t. 59, p. 133.
327. WORMS (R.). — *Gazette des Hôpitaux*, 1940, nos 57, 58, 59 et 60.

TABLE DES MATIÈRES

INTRODUCTION	Pages 7
--------------------	------------

PREMIÈRE PARTIE

ÉTUDE DE QUELQUES DÉRIVÉS DE LA RÉSORCINE

CHAPITRE PREMIER.

Action antiseptique des dérivés de la résorcine.

<i>Données bibliographiques sur le développement de l'étude chimique et l'action antiseptique des dérivés de la résorcine.....</i>	14
I. — Développement de l'étude chimique des dérivés de la résorcine en fonction des variations du pouvoir antiseptique.....	14
II. — Action antiseptique des alcoylrésorcines.....	19
A. — Action sur les bactéries.....	19
1. Action <i>in vitro</i>	19
a) Action des alcoylrésorcines sur diverses espèces microbiennes	20
b) Variations de l'activité en fonction du milieu d'action.....	21
c) Variations d'activité avec les conditions physico-chimiques	23
2. Action <i>in vivo</i>	27
a) Elimination des alcoylrésorcines dans l'organisme.....	27
b) Propriétés bactéricides de l'urine après administration d'alcoylrésorcines.....	30
c) Action bactéricide dans l'intestin, après administration d'alcoylrésorcines.....	31
d) Conditions d'administration, envisagées pour l'hexylrésorcine, dans l'antisepsie urinaire.....	33
B. — Action sur divers organismes autres que les bactéries....	37
1. Action sur les parasites de l'intestin.....	37
a) Action sur les Protozoaires.....	37
b) Action sur les Nématodes et les Cestodes.....	38
2. Action sur les parasites des plantes.....	40
<i>Essais personnels.....</i>	40
I. — Etude de l'action antiseptique <i>in vitro</i>	40

A. — <i>Techniques utilisées</i>	41
1. Détermination du pouvoir antigénétique et du pouvoir antibiotique vis-à-vis du colibacille et du staphylocoque doré.....	41
a) Définitions.....	41
b) Techniques générales communes aux deux déterminations.....	42
c) Détermination de la dose antigénétique en bouillon.....	44
d) Détermination de la dose antibiotique.....	44
e) Schéma d'un essai antigénétique et antibiotique.....	46
2. Détermination du pouvoir antibiotique <i>in vitro</i> , en urine humaine.....	48
a) Technique.....	48
b) Schéma d'un essai.....	49
B. — <i>Résultats des essais in vitro</i>	49
1. Détermination du pouvoir antigénétique et du pouvoir antibiotique.....	50
a) Dose antigénétique en bouillon.....	50
b) Dose antibiotique en eau distillée.....	51
2. Détermination du pouvoir antibiotique en urine humaine.....	52
C. — <i>Conclusions des essais in vitro</i>	54
II. — Etude de l'action antiseptique <i>in vivo</i>	54
A. — <i>Technique</i>	55
1. Marche générale de l'essai.....	55
2. Difficultés de l'essai.....	57
3. Modifications personnelles apportées à la marche de l'essai pour étudier les propriétés antiseptiques <i>in vivo</i> en urine acide ou en urine alcaline.....	59
4. Expression des résultats.....	60
5. Schéma d'un essai.....	60
B. — <i>Résultats des essais du pouvoir antiseptique in vivo</i>	61
1. Pouvoir bactéricide des dérivés résorciniques ordinaires.....	62
2. Pouvoir bactéricide des dérivés résorciniques diacétylés.....	66
C. — <i>Conclusions des essais in vivo</i>	69

CHAPITRE II.

Toxicité générale et action irritante des dérivés résorciniques.

<i>Données bibliographiques</i>	73
I. — Toxicité générale chez les animaux.....	73

II. — Toxicité générale de l'hexylrésorcine et de l'heptylrésorcine chez l'homme	77
III. — Action irritante locale des alcoylrésorcines.....	78
<i>Essais personnels</i>	80
I. — Toxicité générale.....	80
1. Technique d'essai de la toxicité par voie buccale, chez le rat blanc et chez la souris blanche.....	80
2. Résultats des essais.....	82
a) Essais de la toxicité chez le rat.....	82
b) Essais de la toxicité chez la souris.....	85
II. — Action irritante sur l'appareil urinaire.....	87
<i>Conclusions</i>	91

DEUXIÈME PARTIE

ÉTUDE DE L'HEXAMÉTHYLÈNE TÉTRAMINE ET DE DEUX COMPOSÉS LIBÉRANT DU FORMOL

CHAPITRE PREMIER.

Action antiseptique.

<i>Données bibliographiques sur la valeur antiseptique de l'hexaméthylène tétramine</i>	97
I. — Valeur antiseptique du formol.....	98
II. — Valeur antiseptique de l'hexaméthylène tétramine <i>in vitro</i>	99
III. — Action de l'hexaméthylène tétramine <i>in vivo</i>	100
a) Absorption et élimination dans l'organisme.....	101
b) Libération de formaldéhyde dans l'organisme.....	103
c) Désinfection urinaire par l'hexaméthylène tétramine....	106
d) Conditions de la désinfection urinaire.....	107
e) Désinfection générale par l'hexaméthylène tétramine....	109
IV. — Dérivés de l'hexaméthylène tétramine.....	111
<i>Essais personnels</i>	111
I. — Etude de l'action antiseptique <i>in vitro</i>	112
A. — <i>Techniques utilisées (rappel)</i>	112
1. Schéma d'un essai antigénétique et antibiotique....	113
2° Schéma d'un essai du pouvoir bactéricide en urine humaine.....	115
B. — <i>Résultats des essais in vitro</i>	116
1. Détermination du pouvoir antigénétique et du pou- voir antibiotique.....	116
2. Détermination du pouvoir antibiotique <i>in vitro</i> , en urine humaine.....	118
C. — <i>Conclusions des essais in vitro</i>	119

II. — Etude de l'action antiseptique <i>in vivo</i>	121
A. — <i>Technique</i>	121
B. — <i>Résultats des essais in vivo</i>	123
C. — <i>Conclusions des essais in vivo</i>	126

CHAPITRE II.

Toxicité générale et action irritante.

<i>Données bibliographiques</i>	128
<i>Essais personnels</i>	131
I. — Toxicité générale.....	131
1. <i>Technique d'essai de la toxicité</i>	131
2. <i>Résultats des essais</i>	132
II. — Action irritante sur l'appareil urinaire.....	134
<i>Conclusions</i>	137

TROISIÈME PARTIE

ÉTUDE DE DEUX SULFAMIDES

CHAPITRE PREMIER.

Action de la sulfanilamide et de la glucose-sulfanilamide dans l'antiseptie urinaire.

<i>Données bibliographiques</i>	142
I. — Action de la sulfanilamide <i>in vitro</i>	143
II. — Action <i>in vivo</i> dans l'infection expérimentale à bacille coli et germes voisins.....	148
III. — Action de la sulfanilamide dans la thérapeutique des infec- tions urinaires.....	149
IV. — Mode d'action de la sulfanilamide.....	150
<i>Essais personnels</i>	152
Mesure de l'action bactéricide <i>in vivo</i> dans l'urine du lapin.....	152
A. — <i>Rappel de la technique</i>	152
Schéma d'un essai.....	154
B. — <i>Résultats</i>	155
1. Sulfanilamide.....	155
2. Glucose-sulfanilamide.....	156
C. — <i>Conclusions</i>	159

CHAPITRE II.

Élimination de la sulfanilamide et de son dérivé glucosé.

<i>Données bibliographiques sur l'absorption et l'élimination de la sulfani- lamide</i>	162
---	-----

1. Absorption et répartition	162
2. Elimination	164
<i>Essais personnels</i>	167
A. — <i>Technique de dosage de la sulfanilamide dans l'urine</i>	168
B. — <i>Détail des essais</i>	171
1. Elimination de la sulfanilamide	171
2. Elimination de la glucose-sulfanilamide	175
C. — <i>Interprétation des résultats</i>	180
1. Elimination proprement dite	180
a) Taux de l'élimination	181
b) Marche de l'élimination	183
c) Concentrations maxima observées dans l'urine	183
2. Elimination des deux sulfamides et action bactéricide dans l'urine	184
<i>Conclusions</i>	186

CHAPITRE III.

Toxicité de la sulfanilamide et de son dérivé glucosé.

<i>Données bibliographiques</i>	188
Toxicité expérimentale	189
1. Toxicité aiguë	189
2. Toxicité chronique	192
3. Symptômes toxiques observés	192
4. Actions pharmacologiques diverses	192
<i>Essais personnels</i>	196
I. — Toxicité générale	196
1. Technique d'essai	197
2. Résultats des essais	197
a) Toxicité de la sulfanilamide	197
b) Toxicité de la glucose sulfanilamide comparativement à la sulfanilamide ordinaire	199
II. — Action irritante sur le rein	200
III. — Symptômes observés au cours des essais	202
<i>Conclusions</i>	203
<i>BIBLIOGRAPHIE</i>	207

PROPOSITION DONNÉE PAR LA FACULTÉ

Les Protéines-Virus des Plantes.

Vu : Le Président de la thèse,
J. RÉGNIER.

Vu : Le Doyen,
de la Faculté de Pharmacie de Paris
Paris, le 3 octobre 1942.

A. DAMIENS.

Vu et permis d'imprimer :
le Recteur de l'Académie de Paris,
G. GIDEL.

